VOL. 112

IULIE - SEPTEMBRIE
2008

ISSN: 0048-7848
Nr. 3

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ

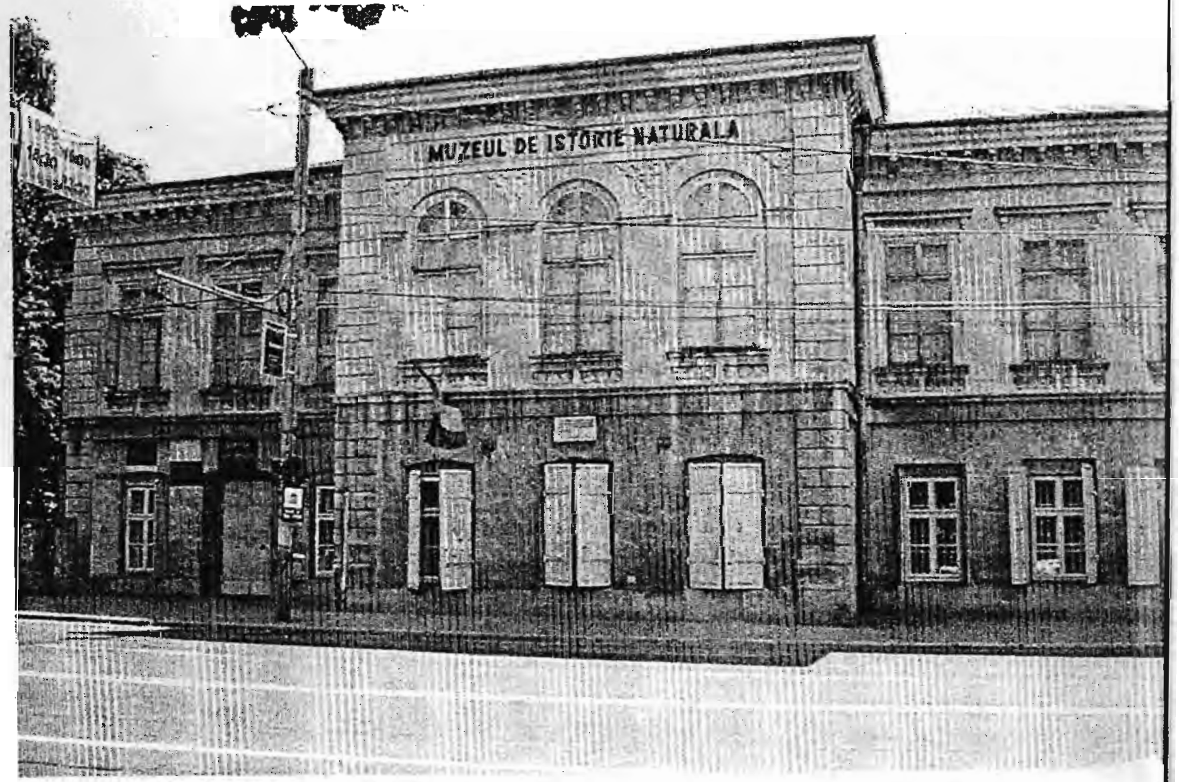
A SOCIETĂȚII DE MEDICI ȘI NATURALIȘTI DIN IAȘI

SEMPER ALTIUS

Revista este inclusă în
INDEX MEDICUS
și în **MEDLINE**

Dorim să stabilim schimburi cu alte publicaţii.
On désire établir l'échange avec d'autres publications.
We wish to establish exchange with other publications.
Wir wünschen mit anderen Herausgaben den Austausch einzurichten.
Desideriamo stabilire scambio con alte publicazioni.
Déseamos establecer intercambio con otras publicaciones.

Revista Medico-Chirurgicală a fost fondată în anul 1887, primul număr apărând în luna ianuarie.
Revista Medico-Chirurgicală was establish in 1887, the first issue come out in January.



Sediul Societății de Medici și Naturaliști Iași

COMITETUL SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI IAŞI

PREŞEDINTE
CAROL STANCIU

VICEPREŞEDINŢI
CORNELIU DIACONU, NORINA CONSUELA FORNA,
GEORGE IOAN PANDELE, VALERIU RUSU, MIRCEA ZAMFIR

SECRETAR
CONSTANTIN IORDACHE

TREZORIER
AUREL IVAN

CENZORI
ELENA BUTNARU, GHEORGHE COSTĂCHESCU, ŞTEFAN LĂCĂTUŞU

PREŞEDINŢI DE ONOARE
IOAN HAULICĂ, GHEORGHE SCRIPCARU, ALLA VÂŢĂ

CERTIFICAT ÎN PRIVINȚA REALITĂȚII, REGULARITĂȚII ȘI LEGALITĂȚII
24. OCT. 2008
PT DIRECTOR BIBLIOTECĂ UNIVERSITARĂ
INGINER CARMEN BONCIU

PREŞEDINŢII SECŢIILOR ŞI CERCURILOR

SECŢII
Ovidiu Brumaru
Elena Butnaru
Gheorghe Costăchescu
Corneliu Diaconu
Norina Consuela Forna
Anca Irina Galaction
Viorica Gavăt
Ioana Grigoraş
Traian Mihăescu
Maria Sultana Mihailovici
Doina Mihalache
Gheorghe Vasile Moscaliuc
Mihai Nechifor
George Ioan Pandele
Liviu Pendefunda
Gheorghe Petrescu
Carol Stanciu
Mircea Zamfir

CERCURI
Vasile Astărăstoae
Eduard Bild
Rodica Marieta Chiriac
Vasile Chiriţă
Dorin Chiseliţă
Vasile Costinescu
Constantin Eremia Cotrutz
Eusebiu Vlad Gorduza
Jan Hurjui
Nicolae Ianovici
Dan Mârţu
Ostin Costel Mungiu
Dragoş Negru
Zenaida Petrescu
Georgeta Siniţchi
Felicia Ştefanache
Eusebie Zbranca

COLEGIUL DE REDACŢIE

Redactor şef
Valeriu RUSU

Redactori şefi adjuncţi
Doina AZOICĂI, Adrian COVIC, Norina Consuela FORNA, Gabriel UNGUREANU

Secretar de redacţie
Lucian Laurenţiu INDREI

Redactori
Secţiunea MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE
Mihaela MUNTEANU, Ioana Dana ALEXA,
Corina DIMA-COZMA, Simona MANEA, Camelia COJOCARIU
Secţiunea CHIRURGIE
Emil ANTON, Radu DĂNILĂ, Radu MOLDOVANU
Secţiunea ŞTIINŢE FUNDAMENTALE
Cipriana ŞTEFĂNESCU, Carmen Lăcrămioara ZAMFIR, Eusebiu Vlad GORDUZA
Secţiunea MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR
Carmen PÂNZARU, Florin Dumitru PETRARIU
Secţiunea MEDICINĂ DENTARĂ
Irina-Draga CĂRUNTU, Gianina IOVAN, Irina GRĂDINARU
Secţiunea FARMACIE
Anca MIRON, Cristina Gabriela TUCHILUŞ
Secţiunea BIOINGINERIE
Alexandru Dan CIOCHINĂ, Gheorghe IACOB

Revista Medico-Chirurgicală (The Medical-Surgical Journal) is available in microform from University Microfilms International and is curently included in the major abstracting and indexing services.

*

Address for all authors:
REVISTA MEDICO-CHIRURGICALA
Society of Physicians and Naturalists
16, Independenţei Blvd.
P.O. Box 25
700098 Iaşi, 1, ROMANIA

Review copy books should be send only to the address above.

For reprint information in the United States contact:
International Reprint Corporation
986 Admiral Callaghan Lane 268
P.O. Box 12004 Vallejo, CA 94500
U.S.A.

Vol. 112/2008, Nr. 3

REVISTA MEDICO-CHIRURGICALĂ
A „SOCIETĂŢII DE MEDICI ŞI NATURALIŞTI" DIN IAŞI

REDACŢIA ŞI ADMINISTRAŢIA: IAŞI, BULEVARDUL INDEPENDENŢEI 16, 700098
Cont Banca Comercială Română filiala Iaşi RO72RNCB0175033604340001
Telefon 0232-216772; e-mail: rev_med_chir@yahoo.com

SUMAR

EDITORIAL

Valeria Laza, Roxana Laza: Trafficking in Human Organs - Dark Facet of Globalization 577

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ACTUALITĂŢI

L. Miron, M. Onofriescu, M. Marinca: Controverse privind chimioterapia intraperitoneală în cancerele ovariene avansate 583
Stela Goţia, Georgiana Russu: Manifestări pulmonare în obezitatea copilului 590
Mirela Manea, Veronica Ruşanu, B.E. Patrichi, Roxana Stoean, Alina Pădurariu, Gabriela Maria Puiu: Tulburările cognitive asociate infecţiei HIV 598
Adriana Hristea, A.I. Luka, Victoria Aramă, Ruxandra Moroti: Febra după călătorii internaţionale 602

ARTICOLE ORIGINALE

Mihaela Cătălina Luca, Doina Mihalache, Carmen Dorobăţ, Cristina-Mirela Petrovici, Mariana Varlan, V. Luca: Studiu transversal asupra leptospirozelor internate în Spitalul Clinic de Boli Infecţioase Iaşi pe o perioadă de 5 ani 612
Mariana Luca, Roxana-Gabriela Bahnea, Mioara Matei, E. Cârdei, Ortansa Stoica: Cercetări epidemiologice retrospective asupra cazurilor de toxocaroză la copii spitalizaţi în perioada 2005-2008 616
Danisia Haba, Anca Indrei, Gabriela Dumitrescu, Liliana Foia, Ana Elena Petcu: Aspecte clinice, computertomografice şi anatomopatologice întâlnite în leziunile spaţiului parafaringian 620
Cynthia Petrovanu, Adorata Elena Coman, G.C. Murariu, Rodica Petrovanu: Sindromul metabolic şi cancerul mamar la vârsta menopauzei 630
Camelia Ciacli, Maria Puşchiţă, Doina Drugărin, C. Solovan, Camelia Vidita Gurban, Coralia Cotoraci: Evaluarea anumitor mediatori ai turnover-ului osos din artrita psoriazică 635
Oana Creţu, Andreea Silvana Szalontay, Roxana Chiriţă, V. Chiriţă: Efectul tratamentului cu memantină la pacienţii cu boală Alzheimer moderat-severă trataţi cu donepezil 641

CAZURI CLINICE

Daciana Elena Brănişteanu, Andreea Dana Molodoi, Laura Stătescu, Zenaida Petrescu, Daniela Vasiluţ, Ecaterina Anisei, D. Ferariu, D. Brănişteanu: Chilblain lupus la adolescent 646
Egidia Miftode, Daniela Leca, V. Luca: Mononucleoza infecţioasă severă asociată cu administrarea ciprofloxacinei şi salazopirinei 652

CHIRURGIE

ARTICOLE ORIGINALE

Iulia Munteanu, S. Ştefan, C. Burcoveanu, S. Pădureanu, C. Bulat: Principii generale de management clinico-terapeutic în fistulele enterale externe post-operatorii 656
S.T. Barbu, C. Vlad, M. Cazacu: Evoluţia pancreatitei cronice de etiologie etanolică la bolnavii din nord-vestul României 662

D. Vasincu, Şt. Mihalache, Geanina Bogza: Colecistectomia laparoscopică la pacienţi cu ciroză hepatică clasa Child A şi colecistită acută litiazică 669
C. Burcoveanu, Iulia Munteanu, S. Ştefan, C. Bulat, S. Pădureanu: Leziunile intraoperatorii de căi biliare 673
I. Köszeghi, N. Dobrin, N. Ianovici: Explorarea caelioscopică în politraumatismele cu componentă neurochirurgicală 676
C. Mitrofan, A. Aldea, Elena Mitrofan, M. Bosânceanu, L. Farmatu, Iulia Jitaru, Cristina Moldoveanu, G. Iosep: Tratamentul chirurgical al chistului hidatic pulmonar 682

CAZURI CLINICE

E. Târcoveanu, A. Vasilescu, R. Moldovanu, N. Vlad, V. Rusu, C. Stanciu: Forme particulare de abces hepatic 688
Maria Gabriela Roşca, D. Mariciuc, D. Ferariu, V. Scripcariu: Boala Castleman cu localizare retroperitoneală 698
L. Stoica, T. Georgescu, E. Bitere, Sînziana Patrulea, Gabriela Omete: Septal Myomectomy and Coronary Artery Bypass in One Case of Hypertrophic Obstructive Cardiomiopathy 703
C. Moroşanu, C.E. Roată, S. Luncă: Anevrism adevărat posttraumatic de arteră femurală. Entitate clinică rară 707

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE

ACTUALITĂŢI

Carmen Ginghină, Magdalena Patriche, R. Chreih, B.A. Popescu, D. Deleanu: Noi perspective privind microcirculaţia coronariană 711
B. Gurzu, F.E. Zugun, M. Costuleanu, Tr. Mihăescu, E. Carasevici, Gh. Petrescu: Adipokines Involvment in Lung Function 719
M. Nechifor, D. Chelărescu: Modulatory Role of Bivalent Cations on Reward System ... 726

ARTICOLE ORIGINALE

Cipriana Ştefănescu, V. Rusu, Daniela Boişteanu, M. Guţu, S. Makkai, L. Miron: Vizualizarea prin scintigrafie a proteinei Pgp - metodă neinvazivă de evaluare a caracterului MDR tumoral 730
D. Ferariu, M. Danciu, Delia Ciobanu, F.E. Zugun, Niculina Florea, Maria Sultana Mihailovici: Evaluarea imunohistochimică a topoizomerazei IIα ca factor de proliferare în limfoamele gastrice 738
R.A. Pintilie, Daniela Constantinescu, Carmen Grigoriu: Studiul prezenţei metaloproteinazei 9 la nivelul proceselor aderenţiale cronice intraperitoneale 744
Magda Cuciureanu, Irina-Draga Căruntu, M. Kuchar, M. Nechifor: The Influence of Leukotriene Receptors' Antagonists on Experimental Induced Ulcer in Rats 750
Manuela Ciocoiu, Anca Miron, Magda Bădescu: Noi extracte polifenolice de combatere a strsului oxidativ în diabetul experimental 757

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR

ACTUALITĂŢI

Simona Irina Damian, Diana Mihai, R.F. Damian: Interpretarea evoluţiei datelor statistice cu impact social 764

ARTICOLE ORIGINALE

Elena Teslariu, Brânduşa Constantin, Cornelia Mihalache: Noi orientări privind bolile profesionale în concordanţă cu programul european 769
Mioara Matei, Şt. Olteanu, Corina Ciolpan, Doina Azoicăi: Cercetări epidemiologice descriptive asupra neoplaziilor genito-mamare în regiunea de nord-est a României ... 775
Cristina Tuchiluş, Antonia Poiată, D. Buiuc: Sensibilitatea *in vitro* a stafilococilor la ciprofloxacin 786

Gabriela Băncescu, A. Băncescu, Silvia Dumitriu, N. Skang: Bacili gram-negativi anaerobi implicaţi în etiopatogenia abceselor cu localizare în lojile superficiale ale feţei şi gâtului 790
Emilia Pătru, Andrea Golli, Mădălina Manea, M. Dănoiu, Suzana Dănoiu: Comportamentul alimentar la persoanele de 55-70 de ani în diverse contexte profesionale ... 796
Corneluţa Fira-Mladinescu, O. Fira-Mladinescu, Sorina Doroftei, Felicia Sas, S. Ursoniu, R. Ionuţ, Salomeia Putnoky, Oana Suciu, Brighita Vlaicu: Consumul de alimente în relaţie cu cancerul colo-rectal. Studiu ecologic în România 805

MEDICINĂ DENTARĂ

ARTICOLE ORIGINALE

Veronica Lazăr, Mariana-Carmen Balotescu Chifiriuc, Marcela Bucur, M. Burlibaşa, R. Sfeatcu, G. Stanciu, B. Savu, T. Trăistaru, Ramona Cernat, Ioana Suciu: Investigation of Dental-plaque Formers Biofilms by Optic and Confocal Laser Scanning Microscopy and Microbiological Tools 812
L. Burlea, Maria Voroneanu: Evaluarea statusului emoţional al copilului în vederea intervenţiilor de chirurgie dento-alveolară ambulatorie 821
Iolanada Foia, L.L. Indrei: Studiu experimental privind implicarea vitaminelor în dezvoltarea sistemului dentomaxilar 824
Mihaela Gîrtan, Florica Stăniceanu, Sabina Zurac, Elisabeta Laba, Norina Forna: Clinical and Pathological Aspects of Epithelial Hyperplasia 828

FARMACIE

ARTICOLE ORIGINALE

Ana Clara Aprotosoaie, Monica Hăncianu, Antonia poiată, Cristina Tuchiluş, A. Şpac, Oana Cioancă, Elvira Gille, Ursula Stănescu: *In vitro* Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Foeniculum vulgare* Mill. 832
D. Mihu, Silvia Imre, L. Vlase, Marcela Achim, Magdalena Cuciureanu: New Method for Determination of Dydrogesterone in Human PLasma for Therapeutic Drug Monitoring in Gynecological Disorders 837
Monica Hăncianu, Ana Clara Aprotosoaie, Elvira Gille, Antonia Poiată, Cristina Tuchiluş, A. Şpac, Ursula Stănescu: Chemical Composition and *in vitro* Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Melissa officinalis* L. from Romania 843
Silvia Imre, Szende Vancea, Daniela Lucia Muntean, Emese Sipos, Adela Cociş, Veronica Avrigeanu, Eleonora Mircia: Stabilitatea unor soluţii orale de captopril 848
M. Apostu, V. Dorneanu: Complecşi ai acidului fosfowolframic cu aplicaţii analitice. Construcţia şi caracterizarea unor electrozi membrană selelctivi pentru unele antihistaminice H2 856
Margareta Ungureanu, Daniela Diculencu, Cristina Archip: Synthesis and Antituberculosis Action of Some New Pyruvic Acid Derivatives 860

Noutăţi: 589, 601, 611, 615, 619, 655, 661, 672, 697, 702, 710, 743, 749, 768, 774, 795, 804, 827, 836, 847, 864

CONTENTS

EDITORIAL

Valeria Laza, Roxana Laza: Trafficking in Human Organs - Dark Facet of Globalization 577

INTERNAL MEDICINE - PEDIATRICS

UPDATES

L. Miron, M. Onofriescu, M. Marinca: Controversies Regarding Intraperitoneal Chemotherapy for Advanced Ovarian Cancer 583
Stela Goţia, Georgiana Russu: Pulmonary Manifestations in Childhood Obesity 590
Mirela Manea, Veronica Ruşanu, B.E. Patrichi, Roxana Stoean, Alina Pădurariu, Gabriela Maria Puiu: HIV Infection Associetd Cognitive Disorders 598
Adriana Hristea, A.I. Luka, Victoria Aramă, Ruxandra Moroti: The Fever of International Travel 602

ORIGINAL PAPERS

Mihaela Cătălina Luca, Doina Mihalache, Carmen Dorobăţ, Cristina-Mirela Petrovici, Mariana Varlan, V. Luca: Transversal Study of the Cases of Leptospirosis Diseases Admitted in the Clinic of Infectious Diseases Iaşi on 5 Years Period 612
Mariana Luca, Roxana-Gabriela Bahnea, Mioara Matei, E. Cârdei, Ortansa Stoica: Retrospective Epidemiological Research on Toxocariasis Cases Hospitalized in the Paediatric Disease Clinic of Iaşi, Between 2005-2008 616
Danisia Haba, Anca Indrei, Gabriela Dumitrescu, Liliana Foia, Ana Elena Petcu: Clinical, Computer Tomographic and Patological Findings of Parapharyngial Space Lesions 620
Cynthia Petrovanu, Adorata Elena Coman, G.C. Murariu, Rodica Petrovanu: Metabolic Syndrome and Breast Cancer Risk in Post-menopausal Women 630
Camelia Ciacli, Maria Puşchiţă, Doina Drugărin, C. Solovan, Camelia Vidita Gurban, Coralia Cotoraci: Bone Turnover Markers Evaluation in Psoriatic Arthritis 635
Oana Creţu, Andreea Silvana Szalontay, Roxana Chiriţă, V. Chiriţă: Effects of Memantine Treatment on Patients with Moderate-Severe Alzheimer Disease Treated with Donepezil 641

CASE REPORTS

Daciana Elena Brănişteanu, Andreea Dana Molodoi, Laura Stătescu, Zenaida Petrescu, Daniela Vasiluţ, Ecaterina Anisei, D. Ferariu, D. Brănişteanu: Chilblain Lupus of the Teenager 646
Egidia Miftode, Daniela Leca, V. Luca: A Severe Case of Infectious Mononucleosis Associated with Ciprofloxacin and Salazopyrin Administration 652

SURGERY

ORIGINAL PAPERS

Iulia Munteanu, S. Ştefan, C. Burcoveanu, S. Pădureanu, C. Bulat: General Principles of Clinical and Therapeutic Management in Postoperative External Enteral Fistulas .. 656
S.T. Barbu, C. Vlad, M. Cazacu: Natural History of Alcoholic Chronic Pancreatitis in North-Western Romania 662

D. Vasincu, Şt. Mihalache, Geanina Bogza: Laparoscopic Cholecystectomy in Patients with Child's Class A Cirrhosis of the Liver and Acute Cholecystitis due to Cholelithiasis 669
C. Burcoveanu, Iulia Munteanu, S. Ştefan, C. Bulat, S. Pădureanu: Therapeutic Particularities in Bile Duct Intraoperative Lesions 673
I. Köszeghi, N. Dobrin, N. Ianovici: Caelioscopic Exploration in Polytraumatisms with Neurosurgical Component 676
C. Mitrofan, A. Aldea, Elena Mitrofan, M. Bosânceanu, L. Farmatu, Iulia Jitaru, Cristina Moldoveanu, G. Iosep: Surgical Treatment of Lung Hydatic Cysts 682

CASE REPORTS

E. Târcoveanu, A. Vasilescu, R. Moldovanu, N. Vlad, V. Rusu, C. Stanciu: Unusual Formas of Liver Abscesses 688
Maria Gabriela Roşca, D. Mariciuc, D. Ferariu, V. Scripcariu: Isolated Retroperitoneum 's Castleman Disease 698
L. Stoica, T. Georgescu, E. Bitere, Sînziana Patrulea, Gabriela Omete: Septal Myomectomy and Coronary Artery Bypass in One Case of Hypertrophic Obstructive Cardiomiopathy 703
C. Moroşanu, C.E. Roată, S. Luncă: True Posttraumatic Femoral Artery Aneurysm. Very Rare Clinical Entity 707

BASIC SCIENCES

UPDATES

Carmen Ginghină, Magdalena Patriche, R. Chreih, B.A. Popescu, D. Deleanu: New Approaches in Coronary Microcirculation 711
B. Gurzu, F.E. Zugun, M. Costuleanu, Tr. Mihăescu, E. Carasevici, Gh. Petrescu: Adipokines Involvment in Lung Function 719
M. Nechifor, D. Chelărescu: Modulatory Role of Bivalent Cations on Reward System ... 726

ORIGINAL PAPERS

Cipriana Ştefănescu, V. Rusu, Daniela Boişteanu, M. Guţu, S. Makkai, L. Miron: Scintigraphic Visualization of Pgp Protein: A Non-invasive Method to Evaluate the MDR Cellular Character 730
D. Ferariu, M. Danciu, Delia Ciobanu, F.E. Zugun, Niculina Florea, Maria Sultana Mihailovici: Immunohistochemical Evaluation of Topoisomerase IIα as Proliferation Factor in Gastric Lymphoma 738
R.A. Pintilie, Daniela Constantinescu, Carmen Grigoriu: Matrix Metalloproteinase 9 Presence on Adherential Intraperitoneal Processes 744
Magda Cuciureanu, Irina-Draga Căruntu, M. Kuchar, M. Nechifor: The Influence of Leukotriene Receptors' Antagonists on Experimental Induced Ulcer in Rats 750
Manuela Ciocoiu, Anca Miron, Magda Bădescu: New Polyphenolic Extracts for Oxidative Stress Treatment in Experimental Diabetes 757

PREVENTIVE MEDICINE - LABORATORY

UPDATES

Simona Irina Damian, Diana Mihai, R.F. Damian: Investigation of Statistic Data Evolution with Social Impact 764

ORIGINAL PAPERS

Elena Teslariu, Brânduşa Constantin, Cornelia Mihalache: New Trends for the Occupational Health in Accordance to the European Program 769
Mioara Matei, Şt. Olteanu, Corina Ciolpan, Doina Azoicăi: Cross-sectional Epidemiological Researches on Genital and Breast Cancers in the North-Eastern Region of Romania 775

Cristina Tuchiluş, Antonia Poiată, D. Buiuc: *In vitro* Susceptibility of Staphylococci to Ciprofloxacin ... 786
Gabriela Băncescu, A. Băncescu, Silvia Dumitriu, N. Skang: Anaerobic Gram-negative Bacilli Involved in the Etiopathogeny of the Abcesses of Superficial Fascial Spaces of the Face and Neck ... 790
Emilia Pătru, Andrea Golli, Mădălina Manea, M. Dănoiu, Suzana Dănoiu: Nutritional Behaviour at Persons Between 55-70 Years of Age from Different Activity Domains ... 796
Corneluţa Fira-Mladinescu, O. Fira-Mladinescu, Sorina Doroftei, Felicia Sas, S. Ursoniu, R. Ionuţ, Salomeia Putnoky, Oana Suciu, Brighita Vlaicu: Food Intake and Colorectal Cancers. An Ecological Study in Romania ... 805

DENTAL MEDICINE

ORIGINAL PAPERS

Veronica Lazăr, Mariana-Carmen Balotescu Chifiriuc, Marcela Bucur, M. Burlibaşa, R. Sfeatcu, G. Stanciu, B. Savu, T. Trăistaru, Ramona Cernat, Ioana Suciu: Investigation of Dental-plaque Formers Biofilms by Optic and Confocal Laser Scanning Microscopy and Microbiological Tools ... 812
L. Burlea, Maria Voroneanu: Emotional profile Evaluation of Child in Sight of Ambulatory Oral Surgery ... 821
Iolanada Foia, L.L. Indrei: Experimental Study Regarding the Involvment of Vitamins in the Development of the Dentomaxilar System ... 824
Mihaela Gîrtan, Florica Stăniceanu, Sabina Zurac, Elisabeta Laba, Norina Forna: Clinical and Pathological Aspects of Epithelial Hyperplasia ... 828

PHARMACY

ORIGINAL PAPERS

Ana Clara Aprotosoaie, Monica Hăncianu, Antonia poiată, Cristina Tuchiluş, A. Şpac, Oana Cioancă, Elvira Gille, Ursula Stănescu: *In vitro* Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oil of *Foeniculum vulgare* Mill. ... 832
D. Mihu, Silvia Imre, L. Vlase, Marcela Achim, Magdalena Cuciureanu: New Method for Determination of Dydrogesterone in Human PLasma for Therapeutic Drug Monitoring in Gynecological Disorders ... 837
Monica Hăncianu, Ana Clara Aprotosoaie, Elvira Gille, Antonia Poiată, Cristina Tuchiluş, A. Şpac, Ursula Stănescu: Chemical Composition and *in vitro* Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Melissa officinalis* L. from Romania ... 843
Silvia Imre, Szende Vancea, Daniela Lucia Muntean, Emese Sipos, Adela Cociş, Veronica Avrigeanu, Eleonora Mircia: Stability of Some Medicinal Solutions with Captopril ... 848
M. Apostu, V. Dorneanu: Analytical Applications of Phosphotungstic Acid Complexes Fabrication and Characterization of Membrane Selective Electrodes for Some H2 Antihitaminics ... 856
Margareta Ungureanu, Daniela Diculencu, Cristina Archip: Synthesis and Antituberculosis Action of Some New Pyruvic Acid Derivatives ... 860

News: 589, 601, 611, 615, 619, 655, 661, 672, 697, 702, 710, 743, 749, 768, 774, 795, 804, 827, 836, 847, 864

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

EDITORIAL

TRAFFICKING IN HUMAN ORGANS - DARK FACET OF GLOBALIZATION

The myths surrounding organ trafficking are profuse both in the „developed" and „developing" worlds. We're all familiar with the urban legend of the tourist who takes a drink offered in a bar and next wakes up in a bath of blood stained ice, an incision in his side, and a note saying *"your kidney's been removed - get to a hospital!"*, a dramatic image that obscures the real facts. Inconceivable? For most of us, yes. But this scenario is all too common in Third World Countries.

Transplantation is the transfer of living cells, tissues, or organs from one person (the donor) to another (the recipient) or from one part of the body to another (for example, skin grafts) with the goal of restoring a missing function.

Human to human (allogenic) transplantation of cell tissue and organs has become the best treatment and often only for a wide range of both fatal and non fatal diseases. Transplantation of human organs saves many lives and restores essential functions in circumstances when no medical alternative of comparable effectiveness exists. This popular medical procedure has become an area of work at WHO and has been increasing over the previous decades. The number of human tissue transplants is increasing in both developed and developing countries, but global data on this form of transplantation are less complete.

Every donor organ that becomes available is allocated very carefully to a recipient based on the compatibility between the donated organ and a recipient, time on the waiting list, medical urgency and other factors. Each country has its own organ allocation organization, which generally works on a national sharing basis. Organs may be transferred throughout a country - or even between countries - to find the most suitable recipient. The waiting list for donor organs is not simply a queue, so for example someone who has a rare blood group may have a lower chance of receiving an organ. It is important to realize that not everyone who has serious kidney, liver or heart disease is suitable for transplantation. For example, only about half of people with kidney failure who undergo dialysis are suitable for a kidney transplant. A transplant may not be possible because a person has cardiovascular disease, cancer or any other condition which may make a transplant an unacceptable risk for that person.

Organs can be donated in three ways:

- The majority of organs come from *brain-dead donors* - people who suffer brain death in a hospital intensive care unit while attached to a ventilator (breathing) machine, and whose heart has not yet stopped. They may have had a stroke (bleed into the brain) or a car crash. Brain death means that the blood supply to the brain has stopped irrevocably and that the brain is no longer alive. In this situation, some organs may still function so long as mechanical respiration continues (i.e. the person is on a breathing machine) and the heart has not yet stopped.
- Sometimes kidneys (but not other organs) can be retrieved from *„non-heart beating donors"*, in whom the heart has

stopped beating. The kidneys must be retrieved within 30-45 minutes or they will not be suitable for transplantation.

- Organs can also be donated by relatives or, less commonly, someone who is *emotionally related* such as a husband or wife. By far the most common type of *living donation* is a kidney, but donation of part of a liver from a parent to a child is also possible. Transplanting a kidney from a living donor is more likely to be successful than transplantation from a brain-dead donor. This is because the kidney is in a very healthy state and also because it can be transplanted in a planned, timed manner. In 1991 the WHO approved a set of Guiding principles which emphasize voluntary donation and non-commercialization.

The most common type of living donation is a *kidney*. However, living donation of *liver* tissue is becoming more widely used, where a small part of a parent's liver is donated to a child. Other organs that are being transplanted are *corneas, lungs, pancreases, skin and heart.*

Blood relatives are the most usual living donors. In some countries emotionally-related people such as husbands and wives may also be able to donate. It is unlikely that anyone under the age of 18 would be considered suitable for living donation. In each case, candidate donors are given a complete medical and psychosocial assessment to evaluate their suitability, and very careful follow-up care after the operation to remove their organ or tissue.

Transplantation has the potential to transform the lives of many thousands of people with severe disease conditions, but its benefits are limited by the acute shortage of donor organs. More thousands of patients from the entire world are on waiting lists for a transplant, but because there are not sufficient organ supplies to meet patients' needs, most of them will die before an organ becomes available. That's why trafficking in human organs has become a worldwide phenomenon brought on by the shortage of donors and the increasing demand for organs.

According to a report presented by the Council of Europe a chronic organ shortage means between 15% and 30 % of European patients die while waiting for a kidney transplant. The average wait for a legal transplant is now three years ; it will be 10 years by 2010.

The deficit of organ donors could be explained by the powerful religious and cultural taboos that discourage donation in some countries of the world. For example, in Muslims societies it is almost impossible to obtain organs from cadavers because Muslims emphasize the importance of maintaining the integrity of the human body after death.

Obtaining organs from the deceased is rare also in Israel because the Orthodox Jewish religion doesn't accept the concept of brain death. They define death as the cessation of the heart activity and not the failure of the brain function. The same antipathy to the concept of brain death and the respect for elder people have almost eliminated organ transplantation in Asia (18).

There are no reliable data on organ trafficking — or indeed transplantation activity in general — but it is widely believed to be on the increase, with brokers reportedly charging between US$ 100,000 and US$ 200,000 to organize a transplant for wealthy patients. Donors – frequently impoverished and ill-educated – may receive as little as US$ 1,000 for a kidney although the going price is more likely to be about US$ 5,000.

The recipients are very wealthy or have very good health insurance. They are the rich and medically insured, those who reject dialysis, and those who refuse organs from cadavers as "unhealthy, unnatural." The organ recipients are the desperately ill who would do anything to save their lives.

Generally the buyers are well-to-do people who are willing to travel very long distances in order to obtain an organ. Rich people would be willing to pay vast sums for organs that could save their lives. If it does become a money game, the rich will get all the organs and the poor will get none.

Many of these patients are wealthy enough to wait on a waiting list, being taken care of on dialysis, which isn't aesthetic or pleasant, and it's not something anyone would want to do out of choice, but it is a bridge until an organ becomes available. Or they could ask a relative. What's happening now is that many people would rather buy from a stranger than ask someone close to them to harm themselves. They are resisting the getting of an organ through a waiting list or through friends or family, and would rather get a poor and anonymous person. It's easier. You don't have to deal with them after the fact.

Patients will do almost anything they can to get the life that they think they deserve, and we can understand it, although we can be troubled by the ethics of it.

Often the buyers are lied to in relation to the sums of money changing hands, believing that their kidney seller is receiving $5,000 to $10,000 when in actual fact it's closer to $1,000 to $2,000.

Essentially, the sellers are the young and poor, especially in places like Russia and Moldova, Estonia, Bulgaria, Turkey, Georgia and Romania : those who are in debt, those who are seeking ways to feed their family and so on.

Most frequently, the donors are young men between 18 and 28 years of age. They are living in very, very poor conditions in rural parts of their country, and poverty had driven some to sell their kidney for a sum of $1,000 (25, 26).

Usually, the victims are impoverished people who have no other choice but to give up a part of their body in order to earn some money, which might allow them to survive. When a woman gave up one of her kidneys for no more than $1,500, she said : „When your children are hungry, you'll do anything... It seemed like a way out".

The easiest preys for the brokers are abused children who run away from home. These children usually don't want to be sent back, so they lie about their names and addresses, and end up kidnapped and eventually killed for their body parts. Sometimes poor and illiterate parents are persuaded to sell their children's organs for very low prices.

The situation raises a number of questions : Should the poor provide for the rich? Should poverty compromise human dignity and health?

Poverty has always provoked desperate measures. People have always been selling parts of themselves, hair, and teeth, so you can question whether there's anything new about this, but of course, now, the technology is different. It's a terrifyingly widespread form of exploitation that can take hold of whole communities.

In the Philippines there are whole slums where people have specialized in selling their body parts. What's really tragic is that, now, having sold the kidney, they want to sell something else because that money that they get disappears quickly. There are obvious medical risks for those selling their kidneys. The after care is nearly always non-existent.

In some developing countries (Albania, Macedonia, Bulgaria, Romania, Kosovo, Serbia and Montenegro) children are sold or kidnapped and forced to work for their owners becoming spare parts.

It's been a while now since new forms of cartels appeared in Colombia - human cartels. They are cartels that kidnap children, cartels that buy and sell organs, cartels that use indigents and then make them disappear in monstrous social cleansing operations. Colombia, the home of ruthless drug cartels, has the highest rate of kidnapping in the world. Street children have been known to take refuge in Bogotá's rat-infested sewer system at night to avoid becoming victims of the dreaded "social cleansing" operations.

One of the cruelest facets of the black market in transplantation is harvesting the bodies of executed prisoners in China without the consent of the prisoners or their families (3, 4). The Chinese authorities deny trading in human organs. They state that this kind of traffic would not be tolerated. In spite of the Chinese authorities' attempt to hide this dreadful procedure from the media, some American transplant surgeons who came into contact with a lot of organ buyers have revealed to the world that the phenomenon is a real one. Organ harvesting from executed prisoners, without permission from family members, is a human rights abuse that violates not only international human rights law, but also international medical ethical standards. Sometimes, the time between arrest and execution is often days or even hours. Some prisoners are taken directly from the courtroom to the execution grounds. Appeals of sentences consistently result in confirmation of sentence. In these jails the space between life and death is often paper thin. According to Chinese laws, a corpse may be used for medical purposes if nobody claims the body or the family refuses to bury it; if the prisoner donates the body for use by medical facilities; or if the inmate's family consents to its use after death. The first category opens the door to abuse because families are often not notified of executions or are too far away or unable financially to make the trip to claim a relative's body. Also, bodies are cremated immediately after a sentence is carried out, making it impossible to determine whether or not the body has been used for medical purposes. In China, the trade in human organs takes place openly, including on the Internet. The complex social issues in China involving severe rural poverty, along with corruption among poorly paid prison and hospital administrators who harvest organs from prisoners and patients without their consent, play a large role in this issue.

In the United States, Federal Bureau of Prisons regulations do not allow organ donation by federal prisoners, unless the donation is to an immediate family member. Other countries have similarly strict laws and regulations regarding organ donations by prisoners.

WHO ARE THE BROKERS ?

They are mediating the organ trade: they put the patients in contact with the sellers or buy the organs themselves at very low prices and sell them for high prices. The brokers are those who facilitate the buying and selling of organs. Organ trafficking has become a business, with human bodies more precious than narcotics.

The human body is no longer priceless; everything can be sold for the right price. On the black market a healthy new born costs 50,000 Euro and a kidney, between $2,500 and 7,000 Euro. The recipient pays $100,000 and $250,000 per transplant. The rest of the money goes to the international organized crime and the doctors who make the transplants.

Nowadays, human organ sales are illegal in most of the world. But the sanctions in one country could stimulate trafficking in a neighboring country. The wealthy patients are willing and able to travel great distances to obtain a transplant.

In most countries, the law on organ transplants is poorly defined, because legislation has not kept up with advances in surgery. It is customary to ask the permission of the relatives, but, because organ removal must take place immediately after death, it may be impossible to reach the relatives in time.

In all EU Member States, with the exception of Austria, payment for organs beyond reasonable compensation is strictly forbidden. But the penalties vary from country to country and there is nothing to stop most European citizens from traveling abroad to purchase organs from living donors in countries where the practice is not illegal. Germany is the exception, with an extraterritoriality clause which makes it illegal for German citizens to get organs anywhere in the world.

Globalization has brought with it opportunities for the weak, poor, and disposed - as well as for criminals. It can be a force for liberation - as well as for enslavement. It can be measured by the flow of goods, services, and capital - as well as humans and their organs. Economic globalization has been accompanied by a depletion of humanism; altruism has been replaced by domestic demand for "fresh organs" where the value of human tissue is measure in terms of dollars.

The circulation of organs follows the modern routes of capital: from south to north; from third world to first world; from poor to rich; from black and brown to white.

In the "long decade" following the collapse of socialism in Eastern Europe, "an international division of labor in crime" emerged. Some criminals specialized in trafficking in drugs; others in human beings; still others in the smuggling of immigrants; others in stolen vehicles, and, finally, others in commercial and customs fraud.

What is the reason for trafficking? The answer lies in large part in the fall of Communism in Eastern Europe. This began as a positive process, but it also carried with it a dark side. When borders opened, they "facilitated the spread of criminal networks." The conditions favorable to crime include: (1) the poverty in source countries and their drive to alleviate that poverty; (2) the weakness of the new democracies; (3) open borders; and (4) a lack of appropriately educated law enforcement staff, and a lack of cross-national cooperation.

Above and beyond the abhorrent trafficking in women and children, another trade in "human flesh" is developing in Eastern Europe: the trafficking in organs. This is not a "myth"; it exists and has its own routes and logistic bases. Today the main market for the organ mafia is Turkey, where human organs are bought and sold as if they were spare parts for cars. The country of origin of the organs is Moldova, the poorest country in Europe with an unemployment rate of 50%. The route taken by the organ sellers leaves Moldova, continues through Romania and Bulgaria, and arrives in the Asian part of Istanbul, where the organs are surgically removed.

Romania is a transit country and a market for organ sellers, but until now, the low number of court cases and convictions regarding trafficking demonstrates the weak implementation of existing laws. Although media reports indicate people involved in this problem, it is not easy to prove the connection, because the trafficking chain (network) is too long and complicated to be elucidated.

In spite of the huge progresses in organs transplant after 1992, in Romania the number of the interventions has decreased because of (a) the lack of donors, (b) the lack of founds, and (c) the non-involvement of the sanitary personal in order to identify the possible donors. In my country, the transplantation has „the courage of the fool" as a symbol, and the surgeons are compared to Don Quijote fighting the windmill.

WHAT CAN BE DONE ?

It's very difficult to eradicate the illegal trade in organs completely, but it can be alleviated.

In many Asian countries the rejection of the idea of brain death makes organ transplantation almost impossible. The *accep-*

tance of the concept of brain death (which could be culturally inoculated) in all countries of the world would provide more organ supplies.

Another possible way would be to establish a system of *presumed consent*. In order to create a system that provides organ supplies, several countries, such as Belgium, Austria and Spain, have established this system. This means that organs can be obtained from all deceased citizens unless they have completed legal papers that prohibit it.

Another way to reduce and finally eliminate the organ trade is to master techniques that would provide newborns with a „*genetic repair kit*" which according would be made of „stem cells or other tissue frozen at birth or even later for eventual cloning into needed organs".

Other people see another way of reducing the organ trade. They believe that people will never give up their organs after death out of altruism. But they might do it if a payment system is introduced (the author proposes to offer $2,000 or so of the funeral costs of anyone who has contributed organs). The system will assure that the organ supplies will come from the dead, which will eliminate the risks for those alive. Moreover, paying for organs would be cost-effective, because dialysis costs much more than the transplant operation. Let the poor do whatever they have to do to survive. If they are desperate, the one thing that is worse than banning the sale of organs is letting them starve to death. It's a shame that people have to die and remain poor just because some of us think that the alternative is ... distasteful.

There is one country that has introduced a legal buy and sells system of organ transplantation, Iran. The Iranian government promises about $1,000 to each person who gives a kidney, and they have erased their waiting list, that's for sure. Everyone who needs a kidney in Iran gets one, which is quite an accomplishment.

It is hard to see a simple solution. The reality is that, worldwide, there is a shortage of organs. This has lead to a murky world where the laws of supply and demand mix uneasily with notions of bodily integrity, with criminality and exploitation.

The human organs trafficking is a serious problem in many third world countries, but when it comes to that tragic issue, silence of the lamb becomes common. Where there is trafficking in human beings there are also trafficking in organs. Both forms of trafficking are being organized by the same mafia clans and are investigated by the same officials.

Human trafficking is a „social evil" that seems to be growing at an alarming rate throughout the world. This practice results in unimaginable human suffering and represents one of the most important human rights violations of our time, resulting in a form of „Modern Slavery".

Complete elimination of human trafficking is a difficult goal to attain. But there are several measures that can be done at least with the aim of preventing it. Increasing public awareness of this issue is important. Campaign, training, public demonstration, street drama, mass media, among other means, can be used. The NGOs should play a dominant role in this regard. The government has to be pressured to strictly enforce the existing laws and ensure punitive measures against the traffickers. There is also a need to strengthen the anti- trafficking network.

There is still much to be done, and little political will to do it. In order to stop the illegal sale of organs, people should first be concerned with eliminating its causes. Finally, we believe that the phenomenon will continue as long as there are factors to encourage it.

Valeria Laza, Roxana Laza

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

CONTROVERSE PRIVIND CHIMIOTERAPIA INTRAPERITONEALĂ ÎN CANCERELE OVARIENE AVANSATE

L. Miron[1], M. Onofriescu[2], M. Marinca[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic de Urgenţe "Sf. Spiridon" Iaşi
1. Clinica de Oncologie
Maternitatea "Cuza-Vodă" Iaşi
2 Clinica a II-a Obstetrică-Ginecologie

CONTROVERSIES REGARDING INTRAPERITONEAL CHEMOTHERAPY FOR ADVANCED OVARIAN CANCER (Abstract): Ovarian cancer is unique among solid tumors in its propensity to remain localized in the peritoneal cavity for much of its natural history. There is now a growing body of clinical data demonstrating a survival advantage for patients with advanced stages of ovarian cancer treated by intraperitoneal (i.p.) chemotherapy compared with standard intravenous (i.v.) treatment route. Cytotoxic agents administered directly into the peritoneal cavity, however, have limited potential for penetrating bulky tumor masses. On the basis of the results of three randomized, phase III clinical trials, i.p. chemotherapy has now been shown to be superior to standard i.v. chemotherapy in the primary setting of chemotherapeutic management of advanced epithelial ovarian cancer, with small residual volume after surgery. Despite the fact that i.p. chemotherapy has been shown to determine an improvement in survival, many investigators feel that the formidable toxicity, complexity, and quality of life alterations associated with i.p. therapy make it mandatory that it should be compared prospectively to a less toxic and more convenient regimen of i.v. carboplatin/paclitaxel. The barriers to implementing this treatment into clinical practice appear to be toxicity concerns, and a lack of technical expertise with the peritoneal infusion devices. It is critically important to state that a large body of exiting data revels this is a management approach that can be administered safely, but not in routine oncology practice, outside the setting of a clinical trial or tertiary medical center. **Key words**: OVARIAN CANCER, CHEMOTHERAPY, INTRAPERITONEAL

Cancerul ovarian (CO) este a cincea neoplazie feminină, cu incidenţa mondială de 202.520 cazuri şi 121.381 decese anual; incidenţa brută în Uniunea Europeană este de 18 cazuri/100.000 femei/an, cu mortalitatea de 12/100.000 femei/an. CO reprezintă 4% din totalitatea cancerelor şi 5% din toate decesele prin cancer (1).

În ciuda progreselor actuale, ratele de supravieţuire la pacientele cu CO epiteliale în stadiile III/IV au rămas reduse în ultimii 30 de ani (< 12% la 5 ani) (2).

Spre deosebire de alte tumori solide, CO prezintă o modalitate unică de diseminare. Deşi boala metastazează pe cale limfatică sau hematogenă, calea principală de diseminare este în interiorul cavităţii abdominale şi/sau a pelvisului, pe calea seroasei peritoneale. Celulele maligne, urmând hidrodinamica lichidului peritoneal prin spaţiile parietocolice, ascensionează spre diafragm şi apoi coboară în pelvis lăsând depozite tumorale în multiple sedii intraperitoneale (3).

Standardele actuale de tratament ale pacientelor cu CO epiteliale avansate constă din chirurgia cu efort citoreductiv maxim (ce presupune absenţa tumorilor restante macroscopic evidente) urmată de şase cicluri de chimioterapie cu citostaticele cisplatin (sau carboplatin) şi paclitaxel. Totuşi, rezultatele sunt departe de a fi satisfăcătoare: timpul mediu până la progresie este de 15-18 luni şi supravieţuirea mediană rămâne mai redusă de 3 ani (4).

În ciuda ratelor de răspuns (RR) crescute după chimioterapia cu cisplatin, paciente cu CO epiteliale prezintă răspuns complet (RC), demonstrat prin intervenţiile tip *second-look* negative, în 20-25% din cazuri. Numai un subgrup de paciente în stadiul III de boală, cu citoreducţie chirurgicală optimă, pot obţine rezultate mai favorabile: timp de progresie a bolii (*progression free survival*, PFS) de 19-21 de luni şi supravieţuire mediană de 49-57 de luni (5).

Definiţia citoreducţiei optime s-a schimbat în timp, de la „nici un nodul > 2 cm" la „absenţa nodulilor tumorali > 1 cm"! (6,7).

Teoretic, ar exista mai multe căi de ameliorare a acestor rezultate: testarea de noi agenţi citostatici sau de noi terapii biologice; chimioterapia intraperitoneală (i.p.), terapii cu intensitate a dozei crescută, ritmarea intervenţiilor chirurgicale alternativ cu terapiile citostatice (cu taxani), terapii de menţinere şi consolidare şi aplicarea de variate scheme şi doze de agenţi. Chimioterapia i.p. prezintă avantajul obţinerii unor concentraţii înalte în peritoneu, spre deosebire de chimioterapia pe cale intravenoasă (i.v.). Pentru acele paciente la care se obţine un răspuns clinic după chimioterapia sistemică de linia I, chimioterapia i.p. este potenţial benefică, în special când tumora este limitată la cavitatea peritoneală (8).

Conceptul de a administra agenţii antineoplazici direct în cavitatea peritoneală datează din anii '50; practic, Dedrick et al. au prezentat în 1978 un model teoretic de administrare i.p. a agenţilor antineoplazici (9).

Administrarea i.p. a chimioterapiei prezintă următoarele avantaje teoretice comparativ cu cea i.v.:

- posibilitatea de a atinge concentraţii locale crescute, care să penetreze în tumorile de volum redus, şi depăşirea chimiorezistenţei
- timp de expunere prelungită a tumorii la acţiunea agenţilor, cu accelerarea acţiunii anumitelor clase de citostatice
- diminuarea toxicităţii sistemice, permiţând o mai bună toleranţă la tratament.

Studiile ce au evaluat raportul concentraţiilor peritoneale în diferite puncte ale peritoneului depăşesc cu mult concentraţiile plasmatice (ex. cisplatin 20:1, carboplatin 18:1, doxorubicin 400:1, paclitaxel 1.000: 1) (10).

Chimioterapia i.p. a fost testată ca tratament "de salvare" în CO în numeroase studii de fază I şi II cu citostatice precum: metotrexat, 5-fluorouracil, doxorubicin, melfalan, citozin-arabinozină, mitoxantron, cisplatin, carboplatin şi paclitaxel. Ratele generale de răspuns au variat de la 10% la 60%, curate de răspuns complet histologic confirmat de la 0% la 35%; la pacientele cu boală reziduală microscopică, ratele de răspuns complet au variat de la 40% la 60%. Toate aceste citostatice au demonstrat avantaje farmacologice, după cum au indicat rapoartele concentraţiei peritoneu/plasmă (11).

În cursul ultimilor 10 ani au devenit disponibile rezultatele a 7 studii randomizate care au evaluat administrarea chimioterapiei i.p. în prima linie de tratament a CO. A fost comparată administrarea chimioterapiei pe cale i.v. faţă de cea combinată, i.v. şi i.p., după chirurgia primară, la pacientele cu citoreducţie optimă (12,13,14,15).

INDICAŢII

Chimioterapia i.p. în CO avansate poate fi recomandată la paciente cu boală reziduală microscopică care nu au suferit rezecţie de intestin (candidate ideale), datele disponibile actual demonstrând că şi pacientele cu tumori voluminoase, dar cu citoreducţie optimă, pot beneficia de acest tratament (16). Sărurile de platină (cisplatin şi carboplatin) reprezintă cheia de boltă a chimioterapiei moderne în CO. Aceste două citostatice, la care s-a adăugat mai recent şi paclitaxel, s-au impus de asemenea şi în administrarea i.p.. Există şi alte citostatice care pot fi administrate i.p., cum ar fi mitoxantron (Novantron®) şi thiotepa, dar utilizarea acestora este extrem de limitată în practică.

Deşi carboplatin a demonstrat o mai bună concentraţie intraperitoneală, experienţa actuală privind administrarea i.p. de *cisplatin* (100 mg/m^2) este mai consistentă; în cazul apariţiei toxicităţii renale şi/sau neurologice (doză-dependente), se recomandă doza de 75 mg/m^2.

Carboplatin i.p. (aria concentraţiei sub curbă, AUC la valoarea de 6), deşi conceptual de interes, determină mielosupresie severă (mai ales trombopenie) la 19% dintre paciente, după 2 administrări. Actual, regimul carboplatin i.p. (AUC 6) asociat cu paclitaxel i.v. (175 mg/m2/3h) poate fi recomandat în cazurile de intoleranţă la cisplatin i.p. (17).

Paclitaxel (Sindaxel®, Taxol®) administrat i.p. prezintă de asemenea un interes potenţial. Studiile de fază I au identificat că administrarea i.p. a 125 mg/m^2 la fiecare 3 săptămâni este optimă. Toxicitatea limitativă a dozei este legată de apariţia durerii abdominale, alte efecte toxice posibile fiind mielosupresia, emeza, neuropatia periferică. Administrarea unor doze de 75-100 mg/m^2 duce la concentraţii IP de ordin de mărime mai mare decât concentraţiile minime necesare pentru a induce un efect terapeutic util. Totuşi, paclitaxel prezintă o rată de *clearance* mai scăzută decât oricare alt citostatic (18).

Meta-analiza recentă a 198 de studii (34.440 paciente) a demonstrat că cel mai bun regim în termenii ameliorării supravieţuirii este o combinaţie de săruri de platină şi taxani cu administrare intraperitoneală; acest protocol poate ameliora riscul relativ de mortalitate în 55% din cazuri, comparativ cu monoterapia non-i.p. fără platină sau taxani. Comparativ cu monoterapia, asociaţiile cu platină cu sau fără administrare i.p. determină o reducere cu 40% a riscului relativ de deces, iar combinaţiile de platină şi taxani fără administrare i.p. determină o reducere cu 42% a acestui risc (19).

În trei studii recente întreprinse în CO stadiu III, cu chirurgie optimală: GOG-114 (15), GOG-158 (8) şi GOG-172 (12), chimioterapia i.p. a ameliorat supravieţuirea comparativ cu tratamentul standard i.v.. În toate cele trei studii fost administrat acelaşi regim de referinţă (control) –cisplatin/paclitaxel i.v. – care a determinat rezultate aproape identice în termenii supravieţuirii generale mediane: 52, 50 şi respectiv 49 luni.

Datele de supravieţuire ale celui mai recent dintre acestea, GOG-172, au dat un impuls nou în utilizarea chimioterapiei i.p., ale cărei rezultate au fost semnificativ mai bune, în ciuda toxicităţii substanţiale (71% dintre paciente au putut completa cele 6 cicluri ale protocolului de tratament). Supravieţuirea fără boală (DFS) la 2 ani a fost de 66% (mediana de 33 luni); supravieţuirea mediană depăşeşte 65 luni. Pacientele randomizate în braţul experimental (cisplatin 100 mg/m^2 i.p. în ziua 1, paclitaxel 60 mg/m^2 în ziua 8) au prezentat efecte toxice (astenie, durere, efecte gastrointestinale, hematologice sau neurologice) semnificativ mai numeroase, cu scăderea calităţii vieţii în primul an după administrare (12).

Rezultatele acestui studiu au condus prompt la anunţul efectuat de National Cancer Institute (NCI) în ianuarie 2006: „trebuie acordată atenţie regimurilor de chimioterapie cu administrare i.p. cu cisplatin (100 mg/m^2) şi paclitaxel la pacientele cu cancere ovariene cu citoreducţie optimă" (20).

Condiţia necesară a răspunsului optim

la chimioterapia i.p. este obţinerea unui volum rezidual tumoral postoperator sub 1 cm. Din acest motiv, cele mai bune rezultate ale chimioterapiei i.p. se obţin ca *tratament de consolidare* la pacientele ce au obţinut un răspuns patologic complet la protocoalele cu cisplatin în linia I. În absenţa unei chirurgii de citoreducţie optimă (tumori reziduale peste 1 cm), supravieţuirea mediană este de 59,4 luni la pacientele tratate cu carboplatin/paclitaxel i.p., comparativ cu 55,4 luni la cele tratate cu cisplatin/paclitaxel i.v. (21).

Actual, se consideră că chimioterapia i.p. se asociază cu o reducere cu 21,6% a riscului de deces, iar pentru categoria de paciente cu citoreducţie optimă chirurgicală beneficiul înseamnă un câştig în supravieţuirea mediană de circa 12 luni.

Terapia i.p. nu a fost acceptată universal ca tratament standard la pacientele cu cancere ovariene în stadiu III cu citoreducţie optimă.

Pe baza datelor disponibile actual, regimul de chimioterapie de preferat în administrare i.p. este cisplatin (75-100 mg/m^2*) şi taxani, administrat numai i.v., sau i.v. plus i.p. (12,17).*

TEHNICA DE ADMINISTRARE

Iniţial, în chimioterapia intraperitoneală se utilizau cateterele de dializă Tenckhoff, care prezintă două probleme majore. Prima, fenestraţiile cateterului tind să formeze teci de fibrină, ceea ce conduce la aderenţe în cavitatea peritoneală. A doua, prezenţa unei „scufii" din dacron, care poate migra în peritoneu şi determina ocluzie intestinală.

Curent, se utilizează un sistem de acces venos subcutan tip *port* conectat la un cateter monolumen de poliuretan de calibru 9.6, recomandat de majoritatea autorităţilor pentru administrarea chimioterapiei i.p. Cateterul este conectat la un rezervor port i.p. securizat prin suturi neresorbabile la fascia peretelui abdominal (22).

Tehnica de administrare presupune inserţia cateterului intraperitoneal, care se face cu ocazia laparotomiei şi durează între 15 şi 30 de minute. Dispozitivul este în întregime implantabil, fiind ataşat de un cateter venos (calibru 9.6) de silicon cu cameră (port) care se va fixa la fascie pentru a putea fi puncţionată cu un ac Huber (catetere peritoneale *portcath* sau Tenckhoff). Sistemul port se plasează la nivelul toracelui inferior pe linia claviculară mijlocie; cateterul se tunelizează subcutanat subfascial la 6 cm lateral de ombilic, fiind scurtat astfel încât să permită 10 cm lungime în cavitatea abdominală.

Chimioterapia i.p. poate fi amânată până la 24h. Sistemul port se spală cu 10 mL heparină de 100U/cm^3. Chimioterapia este în general mixată în 1000 mL ser fiziologic (NaCl 0,9%) încălzit la 37°C şi perfuzată cât mai rapid în sistemul port; se perfuzează încă 1000 mL pentru a asigura distribuţia largă în cavitatea peritoneală. Dacă survine durerea abdominală se renunţă la administrarea celui de-al doilea litru de ser. Se va avea în vedere prehidratarea i.v. cu 1000 mL ser fiziologic şi menţinerea diurezei la 100 mL/h înaintea administrării de cisplatin i.p. (17).

Studiile actuale au preconizat 6 cicluri de chimioterapie i.p., dar numai 42% din pacienţi au putut completa acest program. Chimioterapia i.p. este întreruptă prematur datorită a trei motive principale: problemele legate de cateterul intraperitoneal, durerea abdominală asociată infuzei şi intoleranţa la dozele mari de cisplatin (100 mg/m2) (11).

EFECTE SECUNDARE

Complicaţiile chimioterapiei i.p. survin mai frecvent în mâini neexperimentate, motiv pentru care această modalitate terapeutică rămâne rezervată echipelor pluridisciplinare antrenate.

Administrarea intraperitoneală este asociată cu o toxicitate mai mare decât administrarea i.v.: mielosupresie (leucopenie < 1000 GA/mm^3), infecţii, emeză, neuropatie, disconfort sau durere abdominală, tulburări metabolice. Durerea abdominală este frecventă după chimioterapia i.p. Trebuie avut în vedere riscul de peritonită (greţuri, vărsături, diaree, febră, leucocitoză), fistule, perforaţie intestinală (2,3%, în asociere cu administrarea i.p. de paclitaxel), şi aceste complicaţii trebuie tratate prompt.

Complicaţiile datorate cateterului sunt observate la 1 din 5 paciente, incluzând probleme legate de sistemul port, obstrucţia cateterului, infecţii ale ţesutului subcutanat. Durerea abdominală este o problemă foarte frecventă după chimioterapia i.p. Peritonita sau injuria tractusului gastro-intestinal în caz de greţuri, vărsături, diaree şi leucocitoză.

Anunţul NCI atrage atenţia: „pacienţii cu chimioterapie intraperitoneală sunt mult mai susceptibili să prezinte infecţii, febră, durere abdominală, greţuri, vărsături şi creşterea toxicităţii neurologice". Toxicitatea terapiei nu a permis NCI să „specifice un anumit regim" pentru chimioterapia i.p. (20).

Chimioterapia i.p. poate fi:

A. *Chimioterapia* i.p. *de consolidare* (după administrarea chimioterapiei i.v.) la pacienţii cu boală minimă reziduală, platinum-sensibili, nu întruneşte criteriile de practică curentă, în ciuda unor date sugestive.

B. *Chimioterapia* i.p. *în linia I de tratament* singură sau asociată cu administrarea i.v. a demonstrat, în trei studii randomizate multicentrice de fază III, rezultate superioare faţă de administrarea standard i.v. (18,19,20). Datele de evidenţă cumulative indică un efect global de reducere cu 20% a ratelor de deces, un câştig de supravieţuire de circa 12 luni, dar şi o creştere cu 19% a riscului de deces prin complicaţii secundare. Câştigul în supravieţuire este obţinut cu preţul unui risc crescut de toxicitate acută comparativ cu chimioterapia i.v. (23). Această toxicitate este însă tratabilă. Din acest motiv, la pacientele cu CO care au fost supuse intervenţii chirurgicale de citoreducţie optimă de către ginecologii sau echipa chirurgicală cu experienţă în acest domeniu se recomandă terapia i.v./ i.p. Pe baza datelor disponibile actual, regimul de preferat poate include cisplatin i.p. şi un taxan administrat fie numai i.v. sau i.v. şi i.p.(20).

C. *Chimioterapia* i.p. *de salvare* are un impact în continuare incert datorită absenţei datelor din studii randomizate (pe un număr mic de paciente, unele date sugerează o influenţă pozitivă). Regimurile includ cisplatin plus etoposid, sau cisplatin plus ara-C sau mitoxantron i.p. Supravieţuirea mediană la pacientele responsive cu boală microscopică poate atinge 4 ani, iar la cele cu volum tumoral redus, 40 de luni (24).

CONCLUZII

Administrarea chimioterapiei i.p. reprezintă o modalitate terapeutică promiţătoare, deşi rămân multe aspecte care trebuie precizate. Regimurile de chimioterapie i.p. utilizate actual nu reprezintă cu siguranţă ultimul pas, luând în considerare toxicităţile observate. Este evident că în practica zilnică chimioterapia i.p. nu poate fi admisă de rutină (11).

Obstacolele în calea implementării acestui tratament în practica clinică rămân toxicitatea crescută şi absenţa expertizei tehnice în manevrarea cateterelor intraperitoneale. Sunt necesare noi modalităţi de ameliorare a profilului toxic, cum ar fi utilizarea a diferite tipuri de catetere, momentul optim de plasare a cateterului, durata chimioterapiei şi utilizarea altor agenţi. Este necesar a se studia dacă un număr mai redus de administrări de chimioterapie i.p. prezintă aceeaşi eficacitate. De asemenea este de aşteptat ca noii agenţi biologici, precum *bevacizumab*, să prezinte beneficii superioare şi o toxicitate mai redusă la pacientele cu CO în stadiu III cu citoreducţie optimă comparativ boală mai extinsă (23).

Deşi chimioterapia i.p. a demonstrat un beneficiu de supravieţuire, mulţi experţi rămân la opinia că toxicitatea crescută, complexitatea şi alterarea calităţii vieţii asociată chimioterapiei i.p. în CO avansat face necesară compararea acesteia cu alte modalităţi mai puţin toxice şi mai convenabile precum carboplatin/paclitaxel administrat i.v.

BIBLIOGRAFIE

1. Vasey PA, Herrstedt J, Jelic S. ESMO Minimum clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up of epithelial ovarian carcinoma. *Ann Oncol* 2005 ; 16 (suppl.1) : i13-i16.
2. Karlan BY, Markman MA, Eifel PJ. Ovarian cancer, fallopian tube carcinoma and peritoneal carcinoma. In : DeVita VT Jr, Hellman S, Rosenberg SA editors. *Cancer : Principles and Practice of Oncology*. 7th ed. Philadelphia : Lippincott, Williams & Wilkins, 2005 : 1364-1398.
3. Sonda Y, Springgs D. Ovarian cancer. In : Chang AE, editor. *Oncology - An Evidence Based Approach*. New York : Springer, 2006 : 903-927.
4. du Bois A, Quinn M, Thigpen T et al. 2004 Consensus statement on the management of ovarian cancer : final document of the 3rd International Gynecologic Cancer Intergroup Ovarian Cancer Consensus Conference (GICG 2004). *Ann Oncol* 2005 ; 16 (suppl.8) : vii7-vii12.
5. Ozols RF, Bundy BN, Greier BE et al. Paclitaxel and carboplatin compared to paclitaxel and cisplatin in patients with optimallly resected stage III ovarian cancer : a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2003 ; 21 : 3194-3200.
6. DuBois A, Harter P. The role of surgery in advanced and recurrent ovarian cancer. *Ann Oncol* 2006 ; 17 (suppl.10) : x235-x240.
7. Covens AL. A critique of surgical cytoreduction in advanced ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2000 ; 269-274.
8. Bookman MA, Greer BE, Ozols RF. Optimal therapy of advanced ovarian cancer : carboplatin and paclitaxel versus cisplatin and paclitaxel (GOG158) and an update on GOG182 - ICON5. *Int J Gynecol Cancer* 2003 ; 13 (suppl.2) : 149-155.
9. Dedrick RL, Myers CE, Bungay PM, et al. Pharmacokinetic rationale for peritoneal drug administration in the treatment of ovarian cancer. *Cancer Treat Rep* 1978 ; 62 : 1-9.
10. Vermorken JB. The role of intraperitoneal chemotherapy in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2000 ; 10 (suppl 1) : 26-32.
11. Armstrong DK. Role of intraperitoneal therapy in the management of ovarian cancer - an overview. In : Perry MC, editor. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Alexandria : American Society of Clinical Oncology, 2006 : 314-315.
12. Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, et al. Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 34-43.
13. Alberts DS, Liu PY Hanningan EV, et al. Intraperitoneal cisplatin plus intravenous cyclophosphamide for stage III ovarian cancer. *N Engl J Med* 1996 : 335 : 1950-1955.
14. Markman M, Reichman B, Hakes T et al. Evidence supporting the superiority of intraperitoneal cisplatin compared to intraperitoneal carboplatin for salvage therapy of small volume residual ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 1993 ; 50 : 100-104.
15. Markman M, Bundy BN, Alberts DS, et al. Phase III trial of standard dose intravenous cisplatin plus paclitaxel and intraperitoneal cisplatin in small-volume stage III ovarian carcinoma : An intergroup study of Gynecologic Oncology Group, Southwesten Oncology Group and Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2001 ; 19 : 1001-1007.
16. Bristow RE. Surgical Issues in intraperitoneal therapy. In : Perry MC, editor. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Alexandria, American Society of Clinical Oncology 2006 : 320-323.

17. Markman M, Walker JL. Intraperitoneal chemotherapy of ovarian cancer : a review, with a focus on practical aspects of treatment. *J Clin Oncol* 2006 ; 24 (6) : 988-994.
18. Markman M, Powinsky E, Hakes T et al. Phase I trial of intraperitoneal taxol : a Gynecologic Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1992 ; 10 : 1485-1491.
19. Krasner CN. New approaches for intraperitoneal therapy. In : Perry MC, editor. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Alexandria : American Society of Clinical Oncology 2006 : 323-330.
20. Clinical advisory : NCI issues clinical announcement for preferred method of treatment for advanced ovarian cancer. Available at www.nlm.nih.gov/databases/alerts/ ovarian-ip-chemo.html, accessed March 1, 2006.
21. Gore M. Intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer remains experimental. *J Clin Oncol* 2006 ; 24 (18) : 4528- 4530.
22. Ozols RF. The pros and cons on intraperitoneal therapy in ovarian cancer. In : *Abstract book of The 18th International Congress on Anti-Cancer Treatment*, Paris 2007 : 63-67.
23. McGuire WP. Randomized trials of intraperitoneal therapy : what they reveal and what they do not. In : Perry MC, editor. *American Society of Clinical Oncology Educational Book*. Alexandria : American Society of Clinical Oncology 2006 : 315- 320.
24. Ozols RF. Intraperitoneal chemotherapy with cisplatin in ovarian cancer : comparison with standard intravenous carboplatin and paclitaxel. *Gynecol Oncol* 2006 ; 106 ; 1-6.
25. Rao G, Crispens M, Rothenberg ML. Intraperitoneal chemotherapy for ovarian cancer : overview and perspectives. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 (20) : 2867-2872.

NOUTĂŢI

SINDROMUL PICIOARELOR NELINIŞTITE DUBLEAZĂ RISCUL DE BOLI CARDIOVASCULARE ŞI CEREBROVASCULARE

Într-un studiu recent, sindromul picioarelor neliniştite (RSL- Restless Legs Syndrome May Double Heart Disease, Stroke Risk) a fost asociat cu o creştere semnificativă a riscului de boli cerebrovasculare şi cardiovasculare. Cercetătorii de la Harvard Medical School din Boston, Massachusetts au descoperit că, în comparaţie cu subiecţii fără RSL, cei care prezintă acest sindrom sunt de două ori mai predispuşi la boli de inimă sau infarct ; această asociere a fost mai pronunţată la subiecţii cu o mai mare frecvenţă sau manifestări mai severe ale simptomelor RSL. Asocierea dintre RSL şi incidenţa bolilor de inimă şi a infarctelor este mai pronunţată la subiecţii care au prezentat simptoame RSL de cel puţin 16 ori pe lună. De asemenea, s-a constatat existenţa unui risc crescut în rândul persoanelor care au declarat că simptoamele RSL se manifestă în mod sever, comparativ cu cei care au descris simptoamele ca fiind mai puţin dureroase. În opinia autorilor studiului, RSL poate determina un risc crescut printr-o serie de posibile mecanisme. Între acestea se numără şi posibilitatea ca mişcările sporadice ale piciorului în somn, un simptom caracteristic RSL, să aibă ca rezultat creşteri semnificative ale presiunii sângelui şi a tensiunii. De asemenea, este posibil ca tulburările de somn asociate cu RSL să influenţeze riscul de apariţie a bolilor cardiovasculare. Tulburările de somn constituie principala acuză a persoanelor cu RSL, iar peste 60% din pacienţii cu RLS pronunţat spun că se trezesc de cel puţin trei ori pe noapte şi au o latenţă a somnului mai mare de 30 de minute în nopţile în care se manifestă RSL (Winkelman J et al. Restless legs syndrome may double heart disease stroke risk. *Neurol* 2008 ; 70 : 35-42).

Camelia Cojocariu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ACTUALITĂŢI**

MANIFESTĂRI PULMONARE ÎN OBEZITATEA COPILULUI

Stela Goţia[1], **Georgiana Russu**[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica a II-a Pediatrie
Spitalul Clinic de Urgenţă pentru Copii "Sf. Maria" Iaşi
2 Clinica a III-a Pediatrie

PULMONARY MANIFESTATIONS IN CHILDHOOD OBESITY (Abstract): Obesity has an increasing incidence throughout the world, inducing a complex and multisystemic pathology. The respiratory manifestations are : restrictive respiratory physiology, reduced respiratory compliance, altered ventilation / perfusion index, bronchial hyperresponsiveness. Increases in body mass index (BMI) are associated with increases in prevalence, incidence and severity of bronchial asthma. The mechanic effects of obesity remain important, but the adipocites have many influences by the hormones, leptines, cytokines and other proinflammatory agents. **Key words**: OBESITY, CHILDHOOD, RESPIRATORY FUNCTION

Obezitatea este una dintre cele mai frecvente boli cronice ale copilăriei, afectând 22 milioane de copii în toată lumea. În SUA sunt 25% copii supraponderali şi 11% sunt obezi (1). În 1998, WHO a indicat obezitatea ca epidemie globală (2). Prevalenţa obezităţii este în creştere atât în ţările dezvoltate, unde cifrele s-au dublat faţă de cele din 1972, cât şi în cele în curs de dezvoltare, unde procentul este aproape triplu faţă de acelaşi an (3). Obezitatea induce o patologie bogată, multisistemică, şi la rândul său este agravată de comorbidităţi (tab. I).

OBEZITATEA ŞI FUNCŢIA PULMONARĂ

Supraponderalitatea şi obezitatea în copilărie au impact asupra sănătăţii fizice şi psihologice (depresie). Există numeroase studii efectuate la adulţi care demonstrează asocierea dintre obezitate şi disfuncţia pulmonară, prin efect direct asupra mecanicii respiratorii sau prin modificarea volumelor pulmonare, calibrului căilor respiratorii sau tonusului musculaturii respiratorii (5). La copil, studiile sunt limitate şi controversate.

Obezitatea poate fi asociată cu senzaţia de dispnee în repaus, în absenţa altor cauze cunoscute. Prevalenţa simptomelor creşte cu creşterea indicelui de masă corporală (IMC) şi circumferinţei taliei. Clasic, obezitatea este unul dintre factorii asociaţi cu fiziologie restrictivă extrapulmonară, cu modificarea determinărilor spirometrice: reducerea (volumul expirator maxim în 1 secundă (FEV1), a capacităţii vitale maxime (FVC) şi păstrarea raportului FEV1/FVC. Mecanismul implicat este reducerea complianţei pulmonare asociată cu acumularea grăsimii în şi în jurul peretelui toracic, diafragmului şi abdomenului (6). Complianţa pulmonară este în general redusă cu ł 25%. Totuşi, acest concept clasic se aplică obezităţii morbide.

Modificările anatomiei căilor aeriene observate în obezitate sunt: infiltrarea grasă a muşchilor, care îngustează căile respiratorii superioare şi depozitele de grăsime subcutanate, care comprimă structurile şi îngreunează vizualizarea structurilor laringiene (7).

TABELUL I
Complicaţiile obezităţii la copil (4)

Complicaţii	Efecte
Psihosocial	Izolare, discriminare, depresie
Creştere şi dezvoltare	Vârstă osoasă avansată, talie mare faţă de vârstă, pubertate precoce
SNC	Pseudotumor cerebri
Aparat respirator	Apnee de somn, sindom pickwickian
Aparat cardiovascular	Hipertensiune, cardiomiopatie hipertrofică, cardiopatie ischemică, moarte subită
Aparat locomotor	Luxaţie de cap femural, boală Blount
Metabolism	Creşterea rezistenţei la insulină, diabet zaharat tip 2, hipertrigliceridemie, hipercolesterolemie, gută, steatoză hepatică, ovar polichistic, colelitiază

Obezitatea contribuie semnificativ şi la alte modificări fiziologice ale funcţiei pulmonare. Cel mai des întâlnită este reducerea volumului expirator de rezervă şi capacităţii reziduale funcţionale (FRC). Efectul de supraîncărcare determinat de obezitate reduce FRC, dar nu şi volumul rezidual (RV), de aceea volumul expirator de rezervă scade.

În plus faţă de determinările spirometrice şi ale volumelor pulmonare, oxigenarea şi ventilaţia sunt, de asemenea, afectate în obezitate. În general, în ortostatism se decelează normoxie sau hipoxemie uşoară, dar mulţi pacienţi obezi dezvoltă în timp hipoxemie în poziţie verticală. Modificările schimburilor gazoase pot fi rezultatul dezechilibrului ventilaţie/perfuzie, cu păstrarea perfuziei, dar cu diminuarea ventilaţiei bazelor pulmonare datorită atelectaziei. În obezitate, consumul de oxigen şi producţia dioxidului de carbon sunt exacerbate chiar şi în repaus (8). Efortul de respiraţie în timpul unei respiraţii liniştite necesită consum mai mare de oxigen la pacienţii obezi, astfel încât aceştia vor avea o frecvenţă respiratorie pe minut mai mare în repaus comparativ cu subiecţii normoponderali. Deci, din punct de vedere al schimburilor gazoase, obezitatea determină creşterea răspunsului ventilator la hipoxie şi o relativă reducere a acesteia la hipercapnie.

Spre deosebire de studiile la adult, obezitatea la copil modifică puţin sau deloc indicii spirometrici. Li şi colab au observat reducerea FRC la 46% cazuri (concordant cu studiile la adult) şi o moderată scădere a capacităţii de difuziune pulmonară a monoxidului de carbon la o treime dintre subiecţi, ceea ce nu a fost raportat la adulţi (9). Evaluarea obezităţii trunchiului prin DXA (dual-energy X-ray absorptiometry) a evidenţiat şi reducerea valorilor capacităţii pulmonare totale şi RV, sugerând că DXA este o metodă mai bună decât IMC pentru evaluarea adipozităţii corporale care poate afecta arhitectura pulmonară.

În câteva cohorte pediatrice au fost evaluate efectele IMC asupra funcţiei pulmonare. Un studiu pe 1041 copii astmatici (10) a constatat o corelaţie strânsă între IMC şi creşterea FEV1 şi FVC. Totuşi, valorile mult crescute ale IMC au corespuns cu scăderea raportului FEV1/FVC. Studiul a fost limitat de lipsa copiilor cu valori extreme ale distribuţiei adipozităţii. Autorii cu concluzionat că, în obezitatea uşoară şi medie, creşterea IMC evoluează într-o corelaţie strânsă cu creşterea volumelor spirometrice, aspect interpretat în contextul activării generale a creşterii la aceşti copii. Totuşi, au speculat ideea că scăderea raportului FEV1/FVC odată cu creşterea IMC joacă un rol important în relaţia obezitate - funcţia pulmonară. În aceeaşi direcţie se înscriu datele Studiului Longitudinal al celor Şase Oraşe asupra a 9828 copii (11) şi studiul pe 2176 copii italieni (12); şi aceşti autori au observat scăderea raportului FEV1/FVC odată cu creşterea IMC.

Într-o cohortă de 8484 şcolari australieni, Lazarus et al. au analizat relaţia dintre greutatea corporală, adipozitatea măsurată prin intermediul grosimii pliului cutanat şi volumele pulmonare determinate spirometric (13). Autorii raportează o corelaţie semnificativă între FEV1, FVC şi greutate şi o relaţie inversă între grosimea pliului cutanat şi volumele menţionate anterior. Aceste rezultate confirmă observaţiile anterioare, conform cărora IMC nu este indicatorul optim de evaluare a adipozităţii la copiii cu obezitate uşoară-medie, întrucât nu face distincţia între masa musculară şi grăsime. Inselman şi colab au demonstrat că, la copiii supraponderali, volumele pulmonare scad concordant cu creşterea BMI, deci existenţa unui patern respirator restrictiv (14).

OBEZITATEA ŞI HIPERREACTIVITATEA CĂILOR RESPIRATORII

În afara efectelor asupra volumelor pulmonare statice şi a determinărilor spirometrice, obezitatea are o relaţie separată cu hiperreactivitatea bronşică (HRB). Studii efectuate pe adulţi au relevat valori de două ori mai mari ale rezistenţei respiratorii totale la obezi comparativ cu indivizii normoponderali, explicate de reducerea volumelor pulmonare (15). Studii anterioare au relevat faptul că FRC este redusă în obezitate datorită efectului conţinutului abdominal asupra poziţiei diafragmului. Obezitatea poate induce modificări mecanice asupra căilor aeriene, cum ar fi "latch state", care se referă la creşterea rigidităţii muşchiului neted al căilor aeriene datorită reducerii volumului respirator curent şi a capacităţii reziduale funcţionale, ceea ce determină îngustarea căilor aeriene (16).

Efectele obezităţii asupra HRB pot fi amplificate la copil de mai mulţi factori. Cu cât căile aeriene sunt mai mici şi mai imature, cu atât sunt mai expuse aşa-numitei "latch state". În plus, încărcarea mecanică pe care o presupune obezitatea poate afecta dezvoltarea şi creşterea plămânilor, determinând reducerea funcţiei pulmonare şi creşterea riscului de HRB (17). Obezitatea determină, de asemenea, remodelarea accelerată a căilor aeriene, având ca rezultat obstrucţia fixă. Procesul de remodelare nu este reversibil odată ce scăderea ponderală. Studiul CAMP (Childhod Asthma Management Program) efectuat pe o cohortă de 1041 copii astmatici (10) a relevat o corelaţie strânsă între obezitate şi bronhospasmul indus de efortul fizic, sugerând o relaţie directă între IMC şi HRB.

Un studiu recent a decelat valori reduse ale parametrilor funcţiei respiratorii bazale la copiii obezi (18), creşterea HRB şi a bronhospasmului indus de efort. Se ridică întrebarea dacă bronhospasmul indus de efort duce la evitarea efortului şi instalarea obezităţii sau dacă obezitatea determină sau amplifică HRB la efort. Diagnosticul şi tratamentul bronhospasmului indus de efort poate îmbunătăţi performanţele la efort şi activitatea fizică, determinând reducerea greutăţii corporale şi rupând astfel cercul vicios. Autorii recomandă teste funcţionale respiratorii de rutină la pacienţii obezi, în special la cei fără activitate fizică, pentru diagnosticul precoce al bronhospasmului indus de efort.

OBEZITATEA ŞI ASTMUL

Studii recente estimează că populaţia astmatică a globului este de aproximativ 300 milioane (19). 50% cazuri sunt diagnosticate până la vârsta de 3 ani, 90% până la 6 ani. Astmul este cauza principală a spitalizărilor şi absenteismului şcolar la copil. În SUA, costul medicaţiei şi îngrijirilor copiilor astmatici se ridică la aproximativ 10 bilioane dolari anual.

În populaţia pediatrică, frecvenţa cu care a fost decelată obezitatea ca diagnostic secundar la pacienţii spitalizaţi pentru astm a crescut de la 5,9% în 1979-1981 la 8,1% în 1997-1999, deci o creştere de aproape 40%. Un studiu pe 12388 copii între 2 luni şi 16 ani a decelat un subgrup cu risc maxim pentru evoluţie severă compus din copii cu istoric parental de astm cu vârsta ł 10 ani şi IMC ł percentila 85 (20).

Creşterea prevalenţei astmului a fost observată la copiii supraponderali şi obezi, în special la fete. Studiile epidemiologice asociază creşterea IMC cu creşterea prevalenţei, incidenţei, severităţii şi persistenţei AB. În plus, mai ales la fetele de vârstă şcolară, creşterea IMC a fost asociată cu wheezing, variabilitatea valorilor determinărilor spirometrice şi a răspunsului bronhodilatator.

Numeroşi autori au raportat o corelaţie directă între valorile crescute ale BMI şi astm. Recent a fost demonstrat faptul că relaţia dintre IMC şi astm este mai strânsă la copiii nonatopici decât la atopici (21) prin crearea unui mediu intern proastmatic specific obezităţii.

BAZELE FIZIOPATOLOGICE ALE ASOCIERII OBEZITĂŢII CU DISFUNCŢIA RESPIRATORIE

Clasic, relaţia dintre obezitate şi boala respiratorie a fost interpretată dintr-o perspectivă mecanică, explicându-se cum efectele obezităţii asupra complianţei respiratorii, FRC şi volumelor respiratorii determină susceptibilitatea individului la simptome respiratorii şi boală. Deşi efectele mecanice ale obezităţii rămân importante, adipocitele şi alte modificări care însoţesc obezitatea pot induce suferinţa respiratorie printr-o varietate de mecanisme. Obezitatea este o stare inflamatorie. Poate influenţa, de asemenea, secreţia hormonală, explicând particularităţile specifice pe sexe.

Obezitatea şi refluxul gastroesofagian

Refluxul gastroesofagian (RGE) este un efect mecanic primar al obezităţii şi se asociază cu multiple probleme respiratorii la copii: tuse cronică, evenimente aparent ameninţătoare de viaţă, detresă respiratorie, boală interstiţială pulmonară, pneumonii recurente, wheezing, disfuncţii ale corzilor vocale şi astm. Prevalenţa RGE la copiii obezi astmatici variază între 50-60%. Unul dintre mecanismele implicate în apariţia simptomelor astmatice la copiii obezi include bronhoconstricţia indusă de acid, prin microaspiraţie directă sau prin reflex mediat vagal (22). Tratamentul medical sau chirurgical al RGE determină ameliorarea simptomelor astmatice la aproximativ 70% cazuri. Obezitatea a fost frecvent citată ca factor de risc independent pentru RGE, prin creşterea presiunii abdominale, care determină creşterea gradientului presional la nivelul cardiei. Tratamentul medical şi chirurgical al obezităţii a fost asociat cu ameliorarea simptomelor RGE, fapt care a sugerat ideea că RGE mediază relaţia astm - obezitate.

Modificările sistemului imun induse de obezitate

- *Citokine produse de adipocite*. Multe studii au demonstrat asocieri dintre TNFα, IL6, IL1β, CRP şi obezitate. Mai mult, s-a demonstrat că IL6 şi TNFα sunt mediatori exprimaţi şi de adipocite şi se corelează cu masa grasă totală (23).

Majoritatea studiilor s-au concentrat asupra IL4 şi IL5 ca principalele citokine mediatoare ale AB alergic, dar s-a demonstrat că şi citokinele reglate de obezitate pot avea un impact patogenetic important. IL1β a fost asociată cu creşterea producţiei IL5 de către limfocitele T CD4+. În astm, expunerea la alergeni determină creşterea TNFα, care are ca rezultat stimularea producţiei de IL4 şi IL5. Acestea, împreună cu TNFα, IL1 şi histamina stimulează producerea IL6. S-a postulat că IL6 şi IL4 sunt responsabile de reglarea producţiei de IgE, determină fibroză subepitelială importantă, declanşând remodelarea căilor aeriene la pacientul astmatic (24); IL6 şi TNFα din sursă adipocitară agravează acest proces (23).

- *Leptina* este un hormon produs de adipocite, care acţionează în hipotalamus pentru a semnala saţietatea şi a creşte metabolismul. La majoritatea copiilor obezi şi la adulţi, nivelul leptinei este crescut şi se corelează cu BMI, probabil datorită lipsei de sensibilitate la leptina endogenă. Rolul leptinei în relaţia dintre obezitate şi astm nu este încă elucidat; s-a sugerat că ar fi implicată în patogenia astmului la copiii obezi, IFNγ fiind mediatorul inflamaţiei induse de leptină (25). De asemenea, există studii care susţin rolul leptinei în dezvoltarea plămânului fetal, a proprietăţilor sale imunologice, relaţia cu HRB şi legăturile cu sistemul nervos simpatic. În plămânul aflat în dezvoltare, leptina stimulează sinteza de surfactant în celulele pulmonare fetale şi proliferarea celulelor epiteliale traheale. Studii experimentale au demonstrat că şoarecii cu deficit de leptină au pulmoni de dimensiuni reduse şi control respirator inadecvat, în special în timpul somnului (26).

Din punct de vedere imunologic, leptina este membru al familiei de citokine IL6. În evoluţia populaţiei de celule CD4+, leptina stimulează producţia de limfocite Th tip1 şi suprimă producţia Th2, iar în macrofagele stimulate de lipopolizaharide, leptina determină creşterea producţiei de TNFα, IL6 şi IL12. În relaţia dintre obezitate şi astm nu este clar încă dacă rezistenţa care apare la receptorii leptinici ai hipotalamusului ca modificare indusă de obezitate se extinde şi la receptorii leptinici ai limfocitelor Th şi altor celule implicate în răspunsul astmatic. Se sugerează astfel rolul leptinei în asigurarea dominanţei Th2. În creier, mecanismul rezistenţei la leptină se realizează prin stimularea supresorului semnalului citokinic (SOCS)3, o fosfatază care limitează stimularea receptorilor leptinici (27).

Leptina activează sistemul nervos simpatic prin interacţiunea cu neuropeptidul Y din hipotalamus. Sistemul neuropeptidului Y stimulează comportamentul alimentar şi are efecte puternice asupra stocării energiei în ţesutul adipos. În obezitate, creşterea nivelului leptinei se asociază cu creşterea activităţii sistemului nervos simpatic periferic şi nivelelor neuropeptidului Y. Nivelul seric al neuropeptidului Y este crescut în exacerbările astmatice. Pe plan imunologic, acest neuropeptid suprimă specific celulele Th1 diferenţiate în producerea de IFNă şi stimulează producerea de IL4 de către celulele Th2 (28).

Un studiu pe 102 copii astmatici a raportat nivele ale leptinei semnificativ mai mari faţă de grupul martor de copii sănătoşi (3,53 ng/ml respectiv 2,26 ng/ml). După 4 săptămâni de tratament cu budesonide, nivelele leptinei s-au normalizat. Leptina a fost investigată şi la copiii astmatici obezi. S-a observat că, în grupul copiilor supraponderali, astmaticii aveau valori ale leptinei de două ori mai mari decât ale copiilor fără astm, deşi la copiii normoponderali acest lucru nu s-a constatat (25).

- **Alte influenţe hormonale şi peptidice asupra obezităţii şi bolii respiratorii**

În afara leptinei şi a neuropeptidului Y există numeroşi alţi factori care influenţează cascada inflamatorie şi deci boala pulmonară. A fost studiat rolul vitaminei D, factorului eliberator de corticotropină (CRF), adiponectinei şi inhibitorului activatorului plasminogenului 1.

Vitamina D este un hormon pleiotropic. În obezitate, rolul său constă în creşterea nivelului calciului intracelular, care stimulează lipogeneza şi inhibă lipoliza, determinând creşterea adipozităţii (29). În forma sa activă, 1,25-dihidroxicolecalciferol, efectele inflamatorii includ creşterea diferenţierii limfocitelor T naive către fenotipul Th2. De aceea, creşterea nivelului vitaminei D determină atât creşterea adipozităţii, cât

şi a imunofenotipului Th2. Vitamina D a fost studiată şi în relaţie cu atopia şi astmul. În studii experimentale ale inflamaţiei căilor aeriene, administrarea vitaminei D exogene a fost urmată de creşterea semnificativă a titrului IgE ovalbumin-specifice şi conversie către imunofenotip Th2. Evaluarea rolului vitaminei D în relaţia obezitate – astm se află într-un stadiu incipient.

Factorul eliberator de corticotropină (CRF) are numeroase efecte fiziologice şi comportamentale, cum ar fi anorexia şi termogeneza. Există studii experimentale care constată nivele scăzute ale CRF la animalul obez. De altfel, CRF a fost propus ca potenţială ţintă în tratamentul farmacologic al obezităţii. Deşi nu a fost studiat în mod special rolul său ca factor de risc pentru bolile respiratorii, unele experimente sugerează efectele importante în inflamaţia căilor aeriene, în creşterea rezistenţei tisulare pulmonare şi a nivelelor IL4, IL5 şi IL13 (30). Autorii concluzionează că pacienţii cu deficit de CRF, ca de exemplu cei cu obezitate, au risc crescut de a dezvolta astm.

Adiponectina este cea mai abundentă adipokină, cu rol primar în reglarea sensibilităţii la insulină. Spre deosebire de alte adipokine, nivelul adiponectinei este scăzut în obezitate şi creşte cu reducerea greutăţii corporale. Adiponectina are similarităţi structurale cu TNFα şi inhibă producţia de TNFα, IL6, factorul nuclear kB şi moleculele de adeziune endoteliale şi antagonizează receptorii IL10 şi IL1 (31). S-a observat că adiponectina inhibă proliferarea şi migrarea celulelor musculare netede vasculare în cultură. Deoarece receptorii adiponectinei sunt prezenţi şi în celulele musculare netede ale căilor aeriene, s-a sugerat rolul direct al adiponectinei în reglarea motilităţii musculaturii netede bronşice.

Inhibitorul activatorului plasminogenului (PAI-1) este cel mai important inhibitor endogen al fibrinolizei şi activator al plasminei. Adipocitele produc PAI-1, a cărui concentraţie este crescută în obezitate, determinând creşterea predispoziţiei către HRB datorită efectelor sale asupra turnoverului matricei extracelulare. Acest fapt a fost demonstrat pe model experimental, la şoareci cu astm, la care PAI-1 a fost necesar pentru HRB indusă de lipopolizaharide şi pentru depunerile de colagen şi fibrină asociate cu remodelarea căilor aeriene (32).

În concluzie, este demonstrat că obezitatea este o boală inflamatorie şi că adipocitul este o sursă importantă de agenţi proinflamatori. Mulţi dintre aceşti agenţi creează un mediu adecvat modificărilor dezvoltării pulmonare, predispoziţie către HRB, dezechilibre ale controlului respirator şi susceptibilitate pentru astm.

OBEZITATEA - DIFERENŢE ÎNTRE SEXE

Un studiu pe 16862 copii între 9 - 14 ani a constatat o corelaţie directă între IMC şi prevalenţa astmului atât la fete, cât şi la băieţi. Riscul pentru astm s-a corelat negativ cu stadiile Tanner la băieţi şi pozitiv la fete. Riscul de wheezing a fost de 6,8 ori mai mare la fete pubere devenite obeze faţă de martorele sănătoase (studiu longitudinal pe 1246 fete între 6-11 ani). Acest fapt este susţinut de creşterea variabilităţii volumelor maxime şi răspunsului la salbutamol la fetele obeze (33).

Obezii astmatici prezintă diferenţe în funcţie de sex, care pot fi determinate în mod primar de mărimea căilor aeriene. Femeile par a avea o prevalenţă mai mare a HRB decât bărbaţii, care persistă şi după ajustarea mărimii căilor aeriene. Deşi mecanismele din spatele acestor asocieri nu sunt clarificate, trebuie menţionat că leptina are nivele mai crescute la femei comparativ cu bărbaţii şi poate predispune la exacerbarea statusului inflamator (34).

Diferenţele între sexe pot fi urmarea creşterii estrogenului la adolescente şi a creşterii IMC la debutul pubertăţii. Pe de altă parte, deşi nivelul androgenului este crescut în obezitate, procesul de aromatizare periferică a androstendionului în estron şi a testosteronului în estrogen se produce în ţesutul adipos. Rolul estrogenilor în astmul adolescentelor obeze a fost corelat cu nivelul redus al globulinei ce leagă hormonii sexuali (ceea ce amplifică efectele estrogenului asupra ţesuturilor sensibile), exacerbarea astmului şi reducerea funcţiei pulmonare în timpul menstrelor (35). Administrarea de estrogeni determină translarea reacţiei imunologice dinspre tipul Th1 spre Th2, creşterea producţiei de IL4 şi IL13 de către monocite, creşterea recrutării eozinofilelor şi degranulare (36). Aceste modificări exemplifică fenomenele întâlnite în astm.

În concluzie, obezitatea induce un status inflamator al căilor respiratorii, adipocitul având un rol cheie în acest proces. Citokinele, hormonii şi ceilalţi factori produşi de adipocit creează un mediu adecvat modificărilor dezvoltării pulmonare, determină predispoziţie către HRB, produc dezechilibre ale controlului respirator şi conferă susceptibilitate pentru astm şi cronicizarea inflamaţiei din căile respiratorii.

BIBLIOGRAFIE

1. Dehghan M, Akhtar-Danesh N, Merchant AT. Childhood obesity, prevalence and prevention. *Nutr J* 2005, 4 : 24.
2. *** WHO Obesity. Preventing and managing the global epidemics. Geneva : WHO, 1998.
3. Livingstone MB. Childhood obesity in Europe : a growing concern. *Public Health Nutr* 2001, 4 : 109-116.
4. Krebs NF, Primak EL. Pediatric nutrition and nutritional disorders. In : Kliegman RM, Behrman RE, Marcdante KJ, Jenson HB editors. *Nelson Essentials of Pediatrics*. 5th ed. Elsevier Saunders, 2006, 140-142.
5. Zerah F, Harf A, Perlemuter L, Lorino H, Lorino A. Effects of obesity on respiratory resistance. *Chest* 1993 ; 103 : 1470-1476.
6. Naimark A, Cherniack RM. Compliance of the respiratory system and its components in health and obesity. *J Appl Physiol* 1960 ; 15 : 377-382.
7. Deane S, Thomson A. Obesity and the pulmonologist. *Arch Dis Child* 2006 ; 91 : 188-191.
8. Refsum HE, Holter PH, Loving T, Haffner JF. Pulmonary function and energy expenditure after marked weight loss in obese women : observations before and one year after gastric banding. *Int J Obes* 1990 ; 14 : 175-183.
9. Li AM, Chan D, Wong E et al. The effects of obesity on pulmonary function. *Arch Dis Child* 2003 ; 88 : 361-363.
10. Tantisira KG, Litonjua AA, Weiss ST et al. Association of body mass with pulmonary function in the Childhood Asthma Management Program (CAMP). *Thorax* 2003 ; , 58 : 1036-1041.
11. Pistelli R, Brancato G, Forastiere F et al. Population values of lung volumes and flows in children : effect of sex, body mass and respiratory conditions. *Eur Resp J* 1992 ; 5 : 463-470.
12. Gold DR, Damokosh AI, Dockerz DW, Berkez CS. Body-mass index as a predictor of incident asthma in a prospective cohort of children. *Pediatr Pulmonol* 2003 ; 36 : 514-521.
13. Lazarus R, Colditz G, Berkex CS et al. Effects of body fat on ventilatory function in children and adolescents : cross-sectional finfings from a random population sample of school children. *Pediatr Pulmonol* 1997 ; 24 : 187-194.
14. Inselman LS, Milanese A, Deurloo A. Effect of obesity on pulmonary function in children. *Pediatr Pulmonol* 1993 ; 16 : 130-137.
15. Watson RA, Pride NB. Postural changes in lung volumes and respiratory resistance in subjects with obesity. *J Appl Physiol* 2005 ; 98 : 512-517.

16. Sulit LG, Storfer-Isser A, Rosen C et al. Associations of obesity, sleep-disordered breathing and wheezing in children. *Am J Resp Crit Care Med* 2005 ;.
17. Shore SA, Fredberg JJ. Obesity, smooth muscle and airway hyperresponsiveness. *J Allergy Clin Immunol* 2005 ; 115 : 925-927.
18. Ülger Z, Demir E, Tanaç R et al. The effect of childhod obesity on respiratory function tests and airway hyperresponsiveness. *Turk J Pediatr* 2006 ; 48 : 43-50.
19. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma : executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004 ; 59 : 469-478.
20. Rodriguez MA, Winkleby MA, Ahn D et al. Identification of population subgroups of children and adolescents with high asthma prevalence : findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2002 ; 156 : 269-275.
21. Gilliland FD, Berhane K, Islam T et al. Obesity and the risk of newly diagnosed asthma in school-age children. *Am J Epidemiol* 2003 ; 158 : 406-415.
22. Sontag SJ, Harding SM. Gastroesophageal reflux and asthma. *GI Motility* online (2006) doi : 10.1038/gimo47.
23. Tsigos C, Kyrou I, Chala E et al. Circulating tumor necrosis factor á concentrations are higher in adbominal versus peripheral obesity. *Metabolism* 1999 ; 48 : 1332-1335.
24. Elias JA, Zhu Z, Chupp G, Homer RJ. Airway remodeling in asthma. *J Clin Invest* 1999 ; 104 : 1001-1006.
25. Mai XM, Böttcher MF, Leijon I. Leptin and asthma in overweight children at 12 years of age. *Pediatr Allergy Immunol* 2004 ; 15 (6) : 523-530.
26. O'Donnell CP, Tankersley CG, Polotsky VP et al. Leptin, obesity, and respiratory function. *Respir Physiol* 2000 ; 119 : 163-170.
27. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2005 ; 115 : 911-919.
28. Groneberg DA, Foljerts G, Peiser C et al. Neuropeptide Y. *Pulm Pharmacol Ther* 2004 ; 17 : 173-180.
29. Zemel MB, Miller SL. Dietary calcium and diary modulation of adiposity and obesity risk. *Nutr Rev* 2004 ; 62 : 125-131.
30. Silverman ES, Breault DT, Vallone J et al. Corticotropin-releasing hormone deficiency increases allergen-induced airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004 ; 114 : 747-754.
31. Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, Enrich B, Tilg H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL10 şi IL1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 ; 323 : 630-635.
32. Savov JD, Brass DM, Berman KG et al. Fibrinolysis in LPS-induced chronic airway disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003 ; 285 : L940-L948.
33. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Morgan WJ et al. Increased incidence of asthmalike symptoms in girls who become overweight or obese during the school years. *Am J Respir Crit Care Med* 2001 ; 163 : 1344-1349.
34. Thomas T, Burguera B, Melton LJ et al. Relationship of serum leptin level with the body composition and sex steroid and insulin levels in men and women. *Metabolism* 2000 ; 49 : 1278-1284.
35. Kopelman PG. Hormones and obesity. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1994 ; 8 : 549-575.
36. Salem ML, Matsuzaki G, Kishihara K et al. â-Estradiol suppresses T cell-mediated delayed-type hypersensitivity through suppression of antigen-presenting cell function and Th1 induction. *Int Arch Allergy Immunol* 2000 ; 121 : 161-169.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE **ACTUALITĂŢI**

TULBURĂRILE COGNITIVE ASOCIATE INFECŢIEI HIV

Mirela Manea[1], Veronica Ruşanu[2], B.E. Patrichi[1], Roxana Stoean[2], Alina Pădurariu[2], Gabriela Maria Puiu[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină Dentară
1 Catedra de Psihiatrie şi Psihologie medicală
Spitalul Clinic de Psihiatrie "Prof. Dr. Al. Obregia" Bucureşti
2 Secţia a IV-a Psihiatrie

HIV INFECTION ASSOCIATED COGNITIVE DISORDERS (Abstract): The most frequent neuropsychiatric complication of the human immunodefienciency virus infection is cognitive impairment, wich may range in severity from a mild cognitive disorder to a severe dementing illness. HIV-associated dementia is known to be a poor indicator in patients with HIV. Caring for a person who develops cognitive impairment or even stable dementia is exhausting emotionally, psysically and financially. The most important difference between HIV-associated dementia and HIV associated minor cognitive disorder is the severity of impairment in activities of daily living. The purpose of this articol is to distinguish the most common symptomatology of this complication of HIV infection in order to prevent and treat cognitive deficits from the early stages if is possible. **Key words**: HIV INFECTION, HIV-ASSOCIATED DEMENTIA, COGNITIVE IMPAIRMENT

Primele semne şi simptome neuropsihiatrice şi neurologice asociate infecţiei HIV/SIDA au fost raportate începând cu cele mai timpurii descrieri ale afecţiunii HIV/SIDA. Manifestările neuropsihice raportate iniţial făceau referire la dementă, depresia cu apatie, chiar psihoză.

Iniţial aceste manifestări neuropsihiatrice erau atribuite reacţiilor psihologice directe ale acestei afecţiuni sistemice, efectelor stresorilor psihosociali asociaţi cu boala sau erau considerate o consecinţă a infecţiilor oportuniste (toxoplasmoza, infecţia cu citomegalovirus, criptococoza, tuberculoza, sifilisul pneumonia cu *Pneumocystis carinii*) asociate cu HIV sau a afecţiunilor tumorale (de exemplu un limfom primitiv al sistemului nervos central) (1). Astăzi se ştie că afectarea sistemului nervos central (SNC) în afecţiunea HIV/SIDA este rezultatul unei etiologii variate precum efectul direct al HIV-1 asupra SNC, infecţiile secundare oportuniste virale sau nonvirale, neoplazii (sarcomul Kaposi) sau afecţiunile cerebrovasculare, complicaţiile terapiei sistemice pentru SIDA şi bineînţeles diverse afecţuni asociate (metabolice sau electrolitice). În mod obişuit HIV pătrunde în SNC la scurt timp după infecţie, fie datorită efectului direct al virusului asupra celulelor nervoase, fie ca o reacţe de răspuns a sistemului imunitar la infectia HIV sau a ambelor, o parte din pacienţi pot rezolva diverse afecţiuni neurologice precum encefalită, meningită, neuropatii (2).

Deficitul neurocognitiv asociat infecţiei HIV reprezintă o complicaţie de temut a infecţiei HIV avansate, iar mecanismul apariţiei acestuia nu este pe deplin cunoscut. Deşi terapia antiretrovirală a redus semnificativ numărul de astfel de complicaţii un procent semnificativ de pacienţi rămân cu deficite neuropsihiatrice persistente. În absenţa terapiei antiretrovirale tulburările cognitive progresează rapid. Tulburările cognitive asociate maladiei HIV pot fi împărţite în demenţa asociată maladiei HIV şi în tulburări cognitive-motorii minore. Deşi terapia antiretrovirală poate îmbunătăţi cogniţia şi funcţiile motorii ea nu poate eradica demenţa asociată maladiei HIV şi nici nu poate preveni apariţia ei.

Demenţa asociată maladiei HIV cuprinde o arie largă de manifestări psihiatrice şi neurologice precum modificări ale cogniţiei, ale funcţiei motorii a organismului şi comportamentale. Datele neuropatologice implică cel mai frecvent distrucţia multifocală, difuză, a substanţei albe şi a structurilor subcorticale. Lichidul cefalorahidian poate prezenta o proteinorahie normală sau uşor crescută şi o limfocitoză uşoară, iar HIV poate fi izolat de regulă direct din lichidul cefalorahidian (3). Studiile de imagistică cerebrală şi de neuropatologie postmortem nu au găsit o relaţie clară între markerii morfologici şi intensitatea tulburărilor cognitive. Atrofia corticală difuză, cu lărgirea ventriculilor şi a sulcilor corticali, evidenţiate la computer tomograf, este observată destul de frecvent la pacienti diagnosticaţi SIDA dar care nu prezintă simptomatologie sugestivă pentru demenţă. De asemenea RMN poate fi normal la pacienţi cu demenţă datorată maladiei HIV. Markeri neuropatologici precum plăcile mielinice, glioza astrocitară, pierderile neuronale au fost observate la maxim 50% din cazurile diagnosticate cu demenţă HIV.(4)

Tabloul clinic este acela al unei demenţe subcorticale caracterizate prin semne motorii (hiperreflexie, mers spastic sau ataxic, hipertonie, parapareză), bradikinezie, bradifemie, tulburări de comportament, ale personalităţii şi ale dispoziţiei.(5) Este afectată memoria, în special cea de evocare, funcţia prosexică, rezolvarea problemelor: Un element important îl reprezintă absenţa afaziei, apraxiei şi agnoziei ce sunt caracteristice demenţelor corticale. Fiind o demenţă subcorticală există o disproporţie între capacitatea de concentrare şi de reţinere, învăţare a informaţiilor noi şi viteza şi eficienţa procesării informaţiei al cărei debut este cel mai adesea insidios (5).

Iniţial apar modificări uşoare ale comportamentului, intelectului şi coordonării. Aparţinătorii sesisează vagi schimbări ale personalităţii, mici uitări şi manifestări mai degrabă caracteristice depresiei precum scăderea apetitului, a iniţiativei şi a motivaţiei. Sarcinile mai complexe sau cele ce necesită o capacitate de concentrare crescută devin din ce în ce mai greu de îndeplinit.

Comportamental se observă o retragere socială, scăderea interesului şi a plăcerii pentru activităţi anterior agreate, apatie.

Abilităţile motorii se deteriorează progresiv, mişcările devin mai lente, mersul devine nesigur, apare slăbiciunea musculaturii membrelor inferioare, ataxia, hipertonia, hiperreflexia generalizată, semnele pozitive de eliberare frontală, se observă mişcări sacadice ale globilor oculari şi alterarea mişcărilor oculare de urmărire, la nivelul degetelor se observă mişcări lente, fine, adesea tremurături, mişcări repetitive rapide, reapar reflexele primitive de sugere, de apucare etc. Boala progresează ulterior spre retard psihomotor sever, parapareză, incontinenţă urinară şi pentru materiile fecale, hipersomnie.(5) Pot apare delirium, idei delirante şi halucinaţii. Evoluţia este rapidă astfel încât 50-75% dintre pacienţi mor în mai puţin de 6 luni de la debut (6).

Price, Sidits şi Brew (1991) descriu 5 stadii clinice ale demenţei asociate maladiei HIV (6).

- Stadiul 0.5 - subclinic: este caracterizat de simptome minore, semne neurologice uşoare şi nu există afectarea activităţii profesionale sau a celei cotidiene.

- Stadiul 1 - uşor: prezintă afectări intelectuale şi motorii evidente, pacientul putând efectua activităţile obişnuite cu dificultate.
- Stadiul 2 - moderat: caracterizează pacienţii ce pot nu mai pot lucra sau desfăşura activităţile zilnice, sunt capabili doar să se autoservească şi deşi sunt în ambulator au nevoie de îngrijire.
- Stadiul 3 - sever: afectarea intelectuală este severă şi pacientul nu poate merge fără ajutor.
- Stadiul 4 - final: în care pacientul este aproape vegetativ, prezintă o cogniţie rudimentară, este paraplegic sau tetraplegic.

De asemenea şi copii pot dezvolta o demenţă datorată HIV, care se manifestă de regulă prin întârzieri în dezvoltare, hipertonie, microcefalie şi calcificarea ganglionilor bazali.(3)

Demenţa este recunoscută ca un factor de prognostic prost pentru maladia HIV/SIDA. Există anumiţi factori de risc pentru această complicaţie la pacienţii infectaţi cu HIV precum: vârsta înaintată, hemoglobina şi hematocritul scăzute în momentul diagnosticării infecţiei, sexul feminin, istoric de abuz sau dependenţă de alcool sau droguri administrate intravenos.(7,8)

Dacă demenţa reprezintă cea mai de temut complicaţie neuropsihiatrică a maladiei HIV/SIDA un procent semnificativ de pacienţi înregistrează deficite cognitive moderat-uşoare. Acestea se caracterizează prin lentoare psihomotorie, deficite ale memoriei verbale episodice, deficite ale funcţiei executive, afectarea dexterităţii manuale şi a coordonării bimanuale, afectarea fluenţei memoriei verbale, a timpului de reacţie şi a funcţiilor prosexice.(2)

Tulburarea neurocognitivă uşoară asociată maladiei HIV se caracterizează prin deficite în diverse domenii de funcţionare cognitivă. Acestea pot include tulburări mnezice, de funcţionare executivă (planificare, raţionament), de atenţie sau în ceea ce priveşte rapiditatea procesării informaţiei, tulburări ale capacităţilor perceptuale motorii (de exemplu de integrare a informaţiei vizuale, auditive, tactile, auditive cu activităţile motorii) sau de limbaj (dificultăţi în repetarea cuvintelor, fluenţă scăzută).(3)

Diferenţa primordială între demenţă şi tulburările cognitive uşoare asociate infectării HIV constă în capacitatea de îndeplinire a sarcinilor zilnice. Acestea sunt îndeplinite cu un oarecare efort în cazul deficitelor cognitive moderat-uşoare şi de cele mai multe ori abandonate în cazul demenţelor, pacienţii necesitând supraveghere atentă şi îngrijire permanentă.

Apariţia tulburărilor cognitive la un pacient infectat HIV reprezintă un factor de prognostic prost pentru evoluţia acestuia. Îngrijirea unui astfel de pacient necesită eforturi impresionante financiare, fizice, emoţionale atât din partea cadrelor şi serviciilor medicale cât şi din partea aparţinătorilor. Recunoaşterea timpurie a primelor semne, simptome ce sugerează o tulburare cognitivă reprezintă o necesitate în vederea abordării eficiente a acestei complicaţii în scopul prevenirii progresiei spre stadii mai avansate de boală.

BIBLIOGRAFIE

1. Wilkie FL et al. Mild cognitive impairment and risk of mortality in HIV-1 infection. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1998; 10: 125-132.

2. Tozzi V et al. Persistence of neuropsychologic deficits despite long-term highly active antiretroviral therapy in patients with HIV-related neurocognitive impairment: Prevalence and risk factors. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2007; 45: 174-182.
3. Goodkin K.: *The Neuropsychiatric and Behavioral Manifestations of HIV Infection: Section IX, Clinical Manual on HIV and AIDS: An Update.* Jacksonville: Florida Medical Association, 1995, 113-131.
4. *** American Psychiatric Association. *DSM IV TR*. Bucureşti, 2003, 163-164, 762-763.
5. Goldenberg D, Boyle B. HIV and psychiatry: part I. *AIDS Reader* 2000; 10: 11-15.
6. Sima D. Aspecte clinico-evolutive ale unui lot de pacienţi cu demenţă SIDA. Rev Rom Psihiatrie 2000; 2-3: .
7. White DA, Heaton RK, Monsch AU et al. Neuropsychological studies of asymptomatic human immunodeficiency virus-type 1 infected individuals. *J Int Neuropsychol Soc* 1995; 1: 304-315.
8. Becker JT et al. Prevalence of cognitive disorders differs as a function of age in HIV virus infection. *AIDS* 2004; 18 (suppl. 1): S11 - S18.

NOUTĂŢI

O NOUĂ TERAPIE ANTIPLACHETARĂ CU ANTICORPI ANTIGLICOPROTEINA IV

Takayama et al. descriu o nouă terapie antiplachetară ce are la bază anticorpii anti-receptori plachetari pentru colagen uman. Se ştie că leziunea vasculară este urmată de expunerea colagenului matricei subendoteliale ce interacţionează cu receptorii pentru colagen de pe membrana trombocitelor, ceea ce are ca rezultat adeziunea şi activarea plachetară. Unul dintre aceşti receptori trombocitari, glicoproteina VI (GPVI), joacă un rol crucial în răspunsul plachetar. Autorii au urmărit timp de 20 de ani un pacient cu deficienţă de GPVI plachetară ce nu prezenta trombocitopenie sau sângerări. Analiza imunoglobulinelor serice a arătat existenţa autoanticorpilor anti-GPVI. Plecând de la aceste observaţii, *Takayama* şi colab. au studiat anticorpi monoclonali anti-GPVI de la şoarece ce prezintă reactivitate încrucişata cu autoanticorpii anti- GPVI. Studiile *in vitro* au arătat că unul dintre aceşti anticorpi, mF1232 inhibă agregarea plachetară indusă de colagenul uman. Pentru a investiga mecanismul de acţiune al mF1232, autorii au construit un anticorp hibrid, cF1232, cu aceleaşi calităţi ca şi mF1232. Interacţiunea dintre cF1232 şi GPVI este urmată de internalizarea dependentă de AMPc a complexului cF1232-GPVI. Injectarea subcutanată a unei singure doze de anticorpi cF1232 la maimuţa *cynomolgus monkey* reduce expresia membranară a GPVI şi agregarea plachetară colagen-indusă pentru o perioadă de 7-10 zile. Aceste rezultate sugerează posibilitatea utilizării terapeutice a cF1232 în terapia antiplachetară (Takayama H, Hosaka Y, Nakayama K et al. A novel antiplatelet antibody therapy that induces cAMP-dependent endocytosis of the GPVI/Fc receptor gamma-chain complex. *J Clin Invest*. 2008; 118(5): 1785-1795).

B. Gurzu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ACTUALITĂŢI

FEBRA DUPĂ CĂLĂTORII INTERNAŢIONALE

Adriana Hristea, A.I. Luka, Victoria Aramă, Ruxandra Moroti
Institutul de Boli Infecţioase "Prof. Dr. Matei Balş" Bucureşti

THE FEVER OF INTERNATIONAL TRAVEL (Abstract): Between 20 and 70 percent of the 50 million people who travel from the industrialized world to the developing world each year report some illness associated with their travel. Although most illness reported by travellers are mild, 20-70% of travellers become ill enough to seek medical attention, either during or immediately after travel. The full spectrum of health complaints is unknown. Nevertheless the usual presentation of a returned traveller is a particular syndrome-fever, respiratory infection, diarrhoea, eosinophilia, or skin and soft tissue infection- or screening for asymptomatic infection. The most common diseases diagnosed in returning travellers are more often of cosmopolitan than exotic origin. However, fever in returned travelers always should raise suspicion for a severe or potentially life-threatening tropical infection. Therefore, fever in a returned traveller requires prompt investigation focused on infections that are life-threatening, treatable or transmissible. Careful assessment of the travel history, likely incubation period, exposure history, associated signs and symptoms, duration of fever, immunization status, use or non-use of antimalarial chemoprophylaxis and degree of compliance with the prescribed regimen, if used, helps to establish the diagnosis. Determining an approximate incubation period can be particularly helpful in ruling out possible causes of fever. Malaria is the most important cause of fever in the returned traveller. While most travel-related infections present within 6 months of return, some infections with long latent periods or potential for lifetime persistence might be seen in those who have lived abroad. **Key words**: INTERNATIONAL TRAVEL, FEVER

Aproximativ 50 milioane de oameni din ţările industrializate călătoresc anual în ţări în curs de dezvoltare şi între 20 şi 70% din aceştia prezintă o problemă de sănătate care are legătură cu călătoria. (1) Majoritatea acestor probleme nu sunt severe, totuşi o minoritate dintre călători necesită asistenţă medicală în timpul sau după călătorie, unii pot necesita evacuare medicală şi uneori se poate înregistra decesul. În cele mai multe cazuri febra la călători în ţări tropicale are o origine cosmopolită, mai degrabă decît una exotică (traheobronşită, pneumonie, infecţie urinară), totuşi trebuie ridicată totdeauna şi posibilitatea unei infecţii tropicale, care ar putea fi severă. Incidenţa reală a problemelor de sănătate nu este cunoscută cu acurateţe, deşi în ultimul timp au fost puse la punct sisteme de supraveghere cum ar fi GeoSentinel aparţinând International Society of Travel Medicine şi Centers for Disease Control and Prevention (http : //wwwistm.org/geosentinel/main.htlm) şi TropNetEurop, sistemul European al European Network on Imported Infectious Disease Surveillance (http : //wwwtropnet).

EPIDEMIOLOGIE

Patru studii mai vechi folosind ancheta chestionar care au evaluat problemele de sănătate apărute în cursul călătoriilor internaţionale (rata de răspuns fiind aproximativ 75%) arată că numărul călătorilor bolnavi a variat între 15 şi 43%: 1209 (15%) din 7889 călători elveţieni (Steffen 1987), 5644 (21%) din 26119 călători americani (Kendrick 1972), 868 (33%) din 2665 călători finlandezi (Peltola 1973) şi 950 (43%) din 2211 călători britanici (Reid 1980). Majoritatea autorilor au constatat că diareea reprezenta aproximativ 2/3 din problemele de sănătate (55-68% din totalul îmbolnăvirilor), infecţiile de căi respiratorii superioare situându-se pe locul doi (14-31%), urmate de febră (12-15%) (2).

Dintre studiile mai recente, unele sunt monocentrice (3,4), cel mai vechi fiind o anchetă realizată pe o perioadă de 2 ani (iunie 1989-mai 1991) în care 784 călători americani au fost supravegheaţi 2 luni după întoarcerea din călătorie. Principalele regiuni vizitate erau subcontinentul Indian (21%), Africa Centrală şi de Est (20%), America de Sud (16%), Asia de Sud-Est (14%), Africa de Vest (10%). Au fost semnalate 235 de probleme de sănătate de către 202 călători (26%), respectiv 1,2±0,4 boli/călător. Problemele de sănătate înregistrate au fost diareea, bolile respiratorii, dermatoze şi febră (tab. I).

Într-un alt studiu realizat pe o perioadă de 6 luni (noiembrie 2002-mai 2003) prospectiv monocentric, în Franţa, s-au studiat problemele de sănătate survenite pe parcursul a 3 luni după o călătorie tropicală, destinaţiile fiind reprezentate de Africa Subsahariană (57,6%) şi Asia (26,4%). Durata medie între întoarcerea din călătorie şi consultaţie a fost 26,9 zile (1-120). Au fost diagnosticate 637 boli: dermatoze, boli gastro-intestinale, infecţii respiratorii, hepatită virală, infecţii genito-urinare, tuberculoză, febră denga. Bolile tropicale au reprezentat 36,1%, fiind dominate de malarie, bilharzioze şi febra dengă (4).

Studiul cel mai recent raportează experienţa reţelei GeoSentinel, grupând 30 de centre specializate în medicină tropicală din întreaga lume. Au fost înregistraţi 17.353 pacienţi care au consultat între iunie 1996 şi august 2004 pentru o problemă de sănătate survenită la maximum 10 ani după o călătorie într-o zonă tropicală. Regiunile vizitate au fost Africa Subsahariană (26%), Asia de Sud Est (16%) şi sudul Asiei Centrale (13%). Bolile înregistrate în ordinea frecvenţei au fost: febra fără semne de însoţire, diaree acută, dermatoză, diaree cronică, tulburări digestive altele decât diareea, simptome respiratorii, infecţii de căi urinare sau genitale.

Oricare ar fi erorile acestor studii datorate fie unui eşantion prea mic (primul studiu), fie recrutării în spitale specializate, aceste studii arată că principalele cauze de morbiditate după întoarcerea dintr-o călătorie în zonă tropicală sunt dominate de diaree, dermatoze, infecţii respiratorii şi febră.

Între 2 şi 12% din călători suferă de o

TABELUL I

Frecvenţa diverselor probleme de sănătate după călătorii internaţionale

	Hill [3]	**Ansart** [4]	**Freedman** [5]
Perioada	1989-1991	2002-2003	1996-2004
Loc studiu	SUA	Franţa	30 centre internaţionale
Tip studiu	Chestionar	prospectiv monocentric	prospectiv multicentric
Nr pacienţi	**202**	**622**	**17353**
Diaree acută	103 (51)	122 (19,1)	3859 (22)
Boli respiratorii	75 (37,1)	73 (11,5)	1336 (7,7)
Dermatoze	12 (5,9)	149 (23,4)	2947 (17)
Febră izolată	12 (5,9)	15 (2,4)	1586 (9,1)
Febră de orice cauză	ND	272 (43,7)	3907 (22,5)
Diaree cronică	ND	ND	1961 (11,3)

TABELUL II

Principalele cauze de febră - GeoSentinel Clinics (5)

GeoSentinel Clinics (5)	Număr (%)
Patogen specific sau cauza cunoscută	594 (59,4)
Malarie	352 (35,2)
Denga	104 (10,4)
Sindrom mononucleozic (virus Epstein Barr sau CMV)	32 (3,2)
Rickettsioze	31 (3,1)
Infecții cu Salmonella typhi sau paratiphy	29 (2,9)
Fără cauză cunoscută	406 (40,6)
Total	1000 (100)

TABELUL III

Cauze de febră după călătorii (5,8,9)

Diagnostic	**Proporția de cazuri**		
	Canada (n=587)	**Australia (n=232)**	**Franța (n=257)**
Necunoscut	25	9	1,9 (15 /272)
Malarie	**32**	**27**	**21**
Infecții respiratorii	**11**	**18**	**15.9**
Hepatită	6	3	1,9
Diaree	**5**	**14**	**22**
Pielonefrită	4	1	8,6
Denga	2	8	6,2
Infecție cu Epstein Barr	2	0,4	-
Rickettsioze	1	2	1,2
Amibiază	1	1	1,5
Tuberculoză	1	0,4	4,7
Infecție HIV acută	0,3	0,4	0,8
Alte infecții	4	10	18,6
Alte cauze	4	3	-

TABELUL IV

Asocierea între cele mai frecvente boli şi natura călătoriei

	Odds Ratio (95% CI)			
	Imigranți vs alții	**Expatriați vs alții**	**Călători în scop profesional vs alții**	**Turişti vs alții**
Malarie	1,23 (0,68-2,4)	2,83 (1,43-5,53)	0,31 (0,15-0,62)	1,76 (0,64-4,64)
Dizenterie bacteriană	0,07 (0,01-0,30)	0,24 (0,04-1,04)	3 (1,20-7,29)	4,39(2,16-9,08)
Pneumonie acută	0,36 (0,10-1,14)	0 (0-1,26)	0 (0-2,84)	6,6 (2,10-23,12)
Schistosomiază intestinală	8,52 (2,65-30,34)	0,65 (0,10-2,96)	0,68 (0,03-5.00)	0,06 (0-0,42)
Schistosomiază urinară	18,22 (4,02-114,75)	0,69 (0,11-3,15)	0 (0-3,46)	0 (0-0,30)
Amibiază	0,20 (0,03-0,91)	2,80 (0,93-8,06)	1,56 (0-7,36)	1,25 (0,47-3,30)
Tuberculoză	14,96 (3,24-95,6)	0 (0-1,83)	0 (0-4,13)	0,16 (0,03-0,74)
Febra dengă	0 (0-0,58)	2,13 (0,57-7,34)	4,97 (1,29-17,71)	1,25 (0,42-3,71)
Boli transmise sexual	2,31 (0,92-5,88)	0,62 (0,10-2,79)	0,65 (0,03-4,73)	0,57 (0,21-1,51)
Tract urinar	0,40 (0,11-1,29)	0,62 (0,10-2,79)	1,38 (0,33-5,72)	2,24 (0,86-5,91)
Hepatita virală	5,46 (2,13-14,54)	0,81 (0,19-2,91)	0 (0-2,60)	0,21 (0,06-0,67)

TABELUL V

Distribuţia geografică şi vectorii unor agenţi infecţioşi responsabili de febră după călătorii internaţionale

Agent infecțios	**Distribuția geografică**	**Vector/Mod de infectare**
PROTOZOARE		
Malaria	Majoritatea regiunilor tropicale şi subtropicale, unele regiuni temperate	țânțar
Tripanosomiaza est-africană *Trypanosoma brucei rhodesiense*)	Africa de Est sub-sahariană, cu distribuție focală	musca tse-tse
Leishmanioza viscerală *(Leishmania donovani, L. chagasi)*	Larg răspândită în Africa, Asia, America de Sud şi bazinul Mediteranei, mai ales în zonele rurale	dipter din genul *Phlebotomus*
Filarioza limfatică *(Wucherreria bancrofti)*	Larg răspândită în zonele tropicale	țânțar sau alt artropod
Abcesul hepatic amibian *(Entamoeba hystolytica)*	Răspândire largă, frecvent în țările în curs de dezvoltare	ingestia de chişti din apa sau alimentele contaminate
VIRUSURI		
Denga (serotipurile 1,2,3 şi 4)	Regiunile tropicale şi subtropicale, inclusiv zone urbane	țânțar
HIV	Răspândire globală	expunere parenterală la sânge sau alte fluide infectante
Febră hemoragică Denga Febra galbenă Lassa Hantavirus Rift-Valley Ebola Crimean -Congo	 Africa, America, Asia/Pacific Africa tropicală, N Americii de S Endemică în Africa de Vest Răspândire largă Africa subsahariană Africa Centrală Asia, Europa de Est, Africa Centrala	 țânțar *Aedes* țânțar *Aedes* excremente rozătoare excremente rozătoare țânțar contact direct cu fluide infectate căpuşe
Rabia	Frecventă în anumite părți ale Africii, Asiei şi Americii Latine	muşcătura unui animal infectat (câine)
Encefalita cu arbovirusuri	Răspândire globală	țânțar sau căpuşă
Poliomielita	Africa şi zone din Asia; focare recente în Filipine, R. Dominicană şi Haiti datorită virusului din vaccinul viu atenuat	ingestia de apă sau alimente contaminate cu fecale
Gripa	Răspândire largă, focare sezoniere si non sezoniere pe vasele de croazieră si printre călători	transmitere directă sau aerogenă de la persoane infectate
Hepatita A	Răspândire largă, frecventă în țările în curs de dezvoltare	ingestia de apă sau alimente contaminate
Hepatita E	Focare în Asia, Africa şi America Latină	ingestia de apă sau alimente contaminate
Hepatita B	Răspândire globală; infecție cronică frecventă în Asia, Africa, America Latină	expunere parenterală la sânge şi fluide infectante; expunere sexuală şi perinatală

BACTERII		
Orientia tsutsugamushi	Răspândire largă în Asia; se poate întâlni de asemenea şi în Australia	căpuşă
Leptospiroza - *Leptospira interrogans*	Răspândire largă, cel mai frecvent în zonele tropicale	contact cutanat sau mucos cu urina animaleleor infectate sau apă/sol contaminate; ingestie
Campylobacter, Shigella, Salmonella	Răspândire largă.mai ales în ţările în curs de dezvoltare	ingestia de apă/alimente contaminate
Febra tifoidă (*Salmonella typhi*)	Ţări în curs de dezvoltare, mai ales pe subcontinentul Indian	ingestia de apă/alimente contaminate
Febra pătată (Ricketsii)	Distribuţie globală, speciile cauzatoare variază	căpuşă
Legioneloza *(Legionella pneumophila)*	Răspândire largă, focare pe vase de croazieră şi în hoteluri	inhalare
Febra Q *(Coxiella burnetti)*	Răspândire globală, cu focare endemice	inhalarea de aerosoli infectanţi cu origine animală
HELMINŢI		
Angiostrongiliaza /Meningita eozinofilică *(Angiostrongylus cantonensis)*	Răspândire largă, cel ai frecvent în Asia de Sud şi Sud-Est; focar recent în Jamaica	ingestia de apă contaminată cu molusca vector; ingestia de larve din melci sau peşti de apă dulce
Schistosomiaza acută (febra Katayama)	Regiuni din Asia, Africa sau America Latină	penetrarea pielii intacte de către cercarii în apă dulce
FUNGI		
Histoplasmoza acută *(Histoplasma capsulatum)*	In principal în America (peşteri, mine, şantiere de construcţii)	inhalarea conidiilor aerogene
Coccidioidomicoza acută *(Coccidioides immitis)*	America	inhalarea artroconidiilor aerogene

boală febrilă (6,7), malaria fiind cauza cea mai frecventă la călătorii în Africa şi care nu au beneficiat de chimioprofilaxie (67,8,9), alături de febra dengă, mononucleoză infecţioasă, rickettsioze, febră tifoidă şi paratifoidă, deşi multe febre rămân de cauză neprecizată (tab. II) (5).

Alte două studii efectuate în Canada şi în Australia constată de asemenea că malaria este cea mai frecventă cauză de febră, urmată de infecţii respiratorii şi diaree sau de febră de cauză neprecizată (8,9).

Expunerea la diferiţi germeni patogeni este mai importantă în cazul celor care călătoresc ca să-şi viziteze familia, prietenii sau în călătoriile "aventuroase", faţă de cei care urmează "rute turistice", sau care călătoresc în scop profesional. Călătorii tineri au o probabilitate mai mare de a dobândi infecţii exotice, voiajele lor fiind mai frecvent aventuroase, în timp ce vârstnicii vor avea mai degrabă o complicaţie febrilă a unei boli subiacente. In tablelul 4 se poate urmări diferenţa între diferite categorii de călători (imigranţi, expatriaţi, turişti, călători în scopul afacerilor) privind îmbolnăvirile apărute. Ansart şi colaboratorii au găsit o asociaţie între anumite boli şi statusul călătorilor din perspectiva scopului călătoriei. Astfel imigranţii au consultat mai frecvent pentru schistosomiază intestinală (OR 8,5) sau urinară (OR 18,2), tuberculoză (OR 14,9) şi hepatită virală (OR 5,4). Turiştii au avut mai frecvent dizenterie bacteriană (OR 4,3) şi pneumonie acută (OR 6,6), în timp ce călătorii în scop profesional au consultat mai frecvent pentru dizenterie bacteriană (OR 3) şi febra dengă (OR 4,9).

ABORDAREA DIAGNOSTICĂ A FEBRELOR LA CĂLĂTORUL ÎNTORS DE LA TROPICE

Anamneza

O bună anamneză este esenţială în evalurea unui pacient cu sindrom febril, ghidând investigaţiile iniţiale şi restrângând posbilităţile de diagnostic diferenţial.

TABELUL VI

Puncte importante ale anamnezei

Zona geografică în care a vut loc călătoria
Durata călătoriei –data sosirii şi a plecării
Zona de desfăşurare a activităţii – urbană sau rurală
Scopul călătoriei - turism - vizita rudelor, prietenilor - afaceri - altul?
Activităţi speciale întreprinse - trasee montane - scufundări - speologie - altele?
Expuneri la situaţii de risc epidemiologic - contacte sexuale neprotejate - consumul de apă sau alimente posibil contaminate - muşcături de ţânţari, căpuşe sau alte insecte - înot în lacuri sau ape curgătoare - contact cu fauna locală
Istoric al profilaxiei - vaccinări - profilaxia malariei: cu ce medicament, pe ce durată, evaluarea complianţei la tratament
Debutul simptomelor – în timpul călătoriei sau după data plecării
Alte persoane participante la călătorie care s-au îmbolnăvit

Anamneza trebuie să precizeze locul călătoriei în vederea eliminării din lista de diagnostice diferenţiale a agenţilor infecţioşi care nu sunt întâlniţi în regiunea respectivă, precum şi pentru a evalua probabilitatea implicării anumitor agenţi infecţiosi în funcţie de prevalenţa şi transmisibilitatea în acea zonă. Locul în care pacientul febril a călătorit este important şi din considerente terapeutice (de exemplu tulpinile de *P. falciparum* au rezistenţă extinsă la clorochină în Asia de Sud-Est şi în multe ţări din Africa).

Trebuie precizat de asemenea tipul de activităţi întreprinse de pacient în timpul călătoriei care ar fi putut să-l expună la riscul de a contracta diverse infecţii (călătorie în zone rurale, contact cu fauna localăinclusiv muşcături de insecte, consum de apă sau alimente contaminate, contacte sexuale neprotejate cu populaţia autohtonă).

Este necesar de asemenea ca în cadrul anamnezei să se clarifice şi istoricul de vaccinări precum şi dacă a fost sau nu instituit tratament profilactic pentru malarie şi aderenţa pacientului la acest tratament.

Istoricul călătoriei este important şi pentru că poate estima perioada de incubaţie a unei eventuale boli infecţioase, eliminând astfel anumite etiologii ale căror perioadă de incubaţie nu se încadrează în intervalul sugerat.

I. Febra fără alte manifestări

Malaria

Malaria este cea mai importantă cauză de sindrom febril la persoanele cu istoric recent de călătorii. Majoritatea cazurilor sunt determinate de *Plasmodium falciparum* (30-44%) şi *Plasmodium vivax*. Diagnosticul de malarie trebuie luat în considerare chiar şi la pacienţii febrili care au efectuat profilaxie, deoarece rezistenţa la antimalarice este larg răspândită şi în creştere.

Malaria poate avea simptome care mimează alte procese patologice, deci aceasta

TABELUL VII

Perioade de incubaţie ale celor mai importanţi agenţi infecţioşi ce pot cauza febră la călători

Incubaţie sub 2 săptămâni	Incubaţie între 2-6 săptămâni	Incubaţie peste 6 săptămâni
Malaria (6 zile-ani)*	Malaria (6 zile-ani)	Malaria (6 zile-ani)
Dengue (4-8 zile)	Febra Q (14-21 zile)	Leishmanioza viscerală *(Leishmania donovani, L. chagasi)* (2-6 luni)
Ricketsii (1 săptămână)	Hepatita A (28-30 zile)	Filarioza limfatică *(Wucherreria bancrofti)* (3-6 luni)
Leptospiroza (7-12 zile)	Hepatita E (26-42 zile)	Hepatita B (60-90 zile)
Campylobacter, Salmonella, Shigella (2-6 zile)	Schistosomiaza acută (4-8 săptămâni)	Schistosomiaza acută (4-8 săptămâni)
Febra tifoidă (7-18 zile)	Febra tifoidă (7-18 zile)	
HIV (boala acută 10-28zile)	Abcesul hepatic cu *Entamoeba hystolytica* (săptămâni-luni)	Abcesul hepatic cu Entamoeba hystolytica (săptămâni-luni)
Tripanosomiaza est-africană (*Trypanosoma brucei rhodesiense*) (5-16 zile)	Tripanosomiaza est-africană (*Trypanosoma brucei rhodesiense*) (5-16 zile)	Tripanosomiaza africană (*Trypanosoma brucei rhodesiense , T. brucei gambiense*) boala cronică-luni-ani
Poliomielita (7-14 zile)		Rabia (1-2 luni)
Encefalita cu arbovirusuri (3-14 zile)		Tuberculoza (primară-săptămâni, reactivare-ani)
Gripa (1-3 zile)		
Legioneloza (5-6 zile)		
Histoplasmoza (7-14 zile)		
Coccidioidomicoza (10-14 zile)		
Febră hemoragică (denga, febră galbenă, Lassa, Hantavirus, Rift-Valley, Ebola, Crimean –Congo) (3-14 zile)		

trebuie luată în considerare în diagnosticul diferenţial al pacienţilor cu febră indiferent de prezentarea clinică.

Diagnosticul pozitiv se pune pe examinarea frotiurilor sau determinarea antigenului în sânge. Dacă primul examen al picăturii groase este negativ însă persistă suspicinea de malarie, se indică reptarea acestuia la 12-24 h. Trombocitopenia fără leucocitoză este caracteristică. Tabloul clinic poate include şi splenomegalie.

Plasmodium falciparum

Infecţia cu *Plasmodium falciparum* poate fi rapid fatală mai ales la copii, motiv pentru care diagnosticul precoce este esenţial. Aproximativ 90% din infecţiile cu *P. falciparum* sunt dobândite în Africa Subsahariană iar majoritatea celor infectaţi au debutul simptomatologiei în decurs de o lună de la momentul infecţiei. Evoluţia bolii este imprevizibilă, motiv pentru care pacienţii necesită monitorizare atentă intraspitalicească pentru detectarea complicaţiilor.

Deoarece există mari variaţii ale rezistenţei la antimalarice, se recomandă consultarea ghidurilor curente pentru iniţierea tratamentului. Toţi pacienţii trebuie însă trataţi ca şi cum ar avea rezistenţă la clorochină. Medicaţia parenterală este indicată dacă există semne de severitate (insuficienţă renală, insuficienţă respiratorie, şoc, anemie severă, convulsii) sau dacă pe frotiu se observă *P. falciparum* în >4% din eritrocite.

TABELUL VIII

Sindroame clinice

Sindroame clinice	Agenţi etiologici
Febra fără alte manifestări	Malaria, denga (serotipurile 1,2,3 şi 4), febra pătată (Ricketsii), *Orientia tsutsugamushi,* leptospiroza *-Leptospira interrogans,* infecţia cu *Campylobacter, Shigella, Salmonella*, febra tifoidă (*Salmonella typhi*), HIV
Febra hemoragică	Denga, febră galbenă, Lassa, Hantavirus, Rift-Valley, Ebola, Crimean –Congo
Febra cu afectare a SNC	Meningita meningococică, malaria, febra tifoidă, rabia, encefalita arbovirală, alte encefalite virale/bacteriene, poliomielita, meningita eozinofilică *(Angyostrongylus),* tripanosomiaza Est-Africană
Febra cu manifestări respiratorii	Gripa, legioneloza, histoplasmoza acută, coccidiodomicoza acută, febra Q *(Coxiella burnetti),* tuberculoza

Plasmodium vivax

Aproximativ 70% din cazurile de infecţie cu *P. vivax* sunt contractate în America de Sud sau Asia, iar debutul simptomelor este mai tardiv (doar 50% au debut în decurs de 1 lună de la infecţie, perioada de incubaţie putând să dureze până la 1 an la 2% din pacienţi).

Episoadele febrile care reapar la 48 sau 72 de ore sunt practic foarte sugestive pentru infecţia cu *P. vivax/ovale* respectiv *P. malariae*

Denga

Febra dengă este cauzată de un flavivirus ce se transmite prin ţânţarul *Aedes aegypti* şi a devenit o problemă importantă de sănătate publică în zonele tropicale şi subtropicale.

Există 4 serotipuri ale virusului iar contactul cu un serotip nu conferă imunitate la celelalte serotipuri, ba dimpotrivă, se consideră că suprainfecţia cu un alt serotip ar favoriza formele severe de boală (şoc, forma hemoragică), motiv pentru care acestea sunt rare la călători şi mai frecvente la populaţia din zonele endemice.

Boala are o perioadă de incubaţie scurtă (4-7 zile) şi se prezintă de obicei ca un sindrom pseudogripal (febră, cefalee, mialgii) însoţite de limfadenopatii şi eritem, rash maculo-papular sau peteşii. Probele de laborator evidenţiază ca elemente caracteristice trombopenia şi leucopenia. Diagnosticul este unul serologic (Ac Ig M cu seroconversie la IgG) sau prin PCR. Tratamentul este suportiv, cu hidratare parenterală care este esenţială mai ales în formele severe cu şoc sau hemoragii. Rezoluţia spontană este regula în boala fără complicaţii.

Ricketsioze

Triada febră cefalee şi mialgii la pacienţii care au efectuat călătorii recente într-o zonă endemică poate indica o infecţie cu multiple specii de Ricketsii (tifosul mediteranean - *R. conori,* tifosul african - *R. africae, Orientia tsutsugamushi,* febra pătată a Munţilor Stâncoşi - *R. ricketsii*), majoritatea fiind transmise prin căpuşe. Escara la locul muşcăturii este un indiciu diagnostic important. Tabloul clinic şi biologic poate include limfadenopatii regionale, trombocitopenie, leucopenie şi rash (care este deseori absent în tifosul african).

Deoarece testele serologice nu se pozitivează de la început se recomandă iniţierea tratamentului empiric cu doxicilină pe baza tabloului clinic.

Febra tifoidă

Febra tifoidă are o perioadă de incubaţie de 3-60 zile şi poate să se prezinte sub forma unui sindrom febril prelungit însoţit de cefalee la un pacient fără alte elemente importante la examenul fizic. Manifestările digestive pot fi variabile, mai ales la copii (constipaţie la debut, apoi diaree). Alte modificări includ tusea seacă, adenopatiile, trombocitopenia şi leucopenia.

Peste 70% din cazurile de febră tifoidă din Statele Unite apar la pacienţi cu un istoric de călătorii în Subcontinentul Indian, Filipine sau America Latină, iar vaccinarea în antecedente nu exclude diagnosticul deoarece vaccinul este eficient doar în 70% din cazuri.

II. Febra asociată cu hemoragii

Mai multe infecţii cu prognostic favorabil sub tratament pot să se manifeste prin sindroame febrile asociate cu hemoragii (meningococemii, leptospiroză, ricketsioze, malarie). Pe lângă acestea, există un număr însemnat de infecţii virale (dengă, febră galbenă, Ebola, Lassa) care pot determina febră cu manifestări hemoragice, însă acestea sunt rar contractate de călători. Totuşi, datorită importanţei epidemiologice, acestea trebuie luate în considerare în cazurile de febră hemoragică după călătorii, mai ales în zone rurale din regiuni endemice. Majoritatea persoanelor infectate prezintă debutul simptomatologiei în decurs de 3 săptămâni de la contactul infectant.

III. Febra cu afectare SNC

Există câteva cauze speciale care trebuie luate în considerare la călătorii cu febră şi manifestări neurologice, în afara cauzelor infecţioase obişnuite. Acestea sunt: malaria, tuberculoza, febra tifoidă, infecţiile cu ricketsii, poliomielita, rabia, encefalitele virale. Meningita cu meningococ este asociată cu pelerinajul anual la Mecca, iar leptospiroza cu meningita aseptică. Meningita cu eozinofile este asociată cu infecţii cu *Coccidioides immitis* şi *Angyostrongylus cantonensis*. De asemenea, tripanosomiaza Est-Africană se poate manifesta cu meningoencefalită, precedată de cefalee, mialgii, eritem sau şancru la locul muşcăturii (musca tse-tse).

IV. Febra cu manifestări respiratorii

Simptomele respiratorii sunt relativ frecvente printre călători, ele apărând la circa 20-40% din aceştia în timpul sau după călătorie. Cele mai frecvente cauze sunt cele alergice, infecţiile virale ale căilor respiratorii superioare, precum şi gripa şi infecţiile pneumococice.

Infecţiile cu *Legionella pneumophylla* apar la călătorii de pe vasele de croazieră. Histoplasmoza şi criptococoza au fost semnalate la pacienţii care au călătorit în Mexic. Febra Q (*Coxiella burnetti*) trebuie luată în considerare la pacienţii febrili cu pneumonie şi hepatită. care prezintă expunere la animale. La pacienţii cu febră, simptome respiratorii şi eozinofilie trebuie evocat şi sindromul Loffler (dat de migrarea stadiului larvar al ascarizilor, strogyloides etc.). Tuberculoza este de asemenea un risc la care se expun călătorii internaţionali, aceasta putând să se manifeste clinic mult timp după de la contactul infectant. Simptome respiratorii pot să apară şi în malarie, dengă şi febra tifoidă.

CONCLUZII

- În cele mai multe cazuri febra la călători în ţări tropicale are o origine cosmopolită mai degrabă decît una exotică, totuşi trebuie ridicată totdeauna şi posibilitatea unei infecţii tropicale, care ar putea fi severă. Febra după călătorii internaţionale necesită investigaţii rapide axate pe infecţiile ameninţătoare de viaţă, tratabile sau transmisibile.
- In diagnosticul diferenţial al bolilor tropicale examenul fizic şi anamneza sunt esenţiale pentru orientarea testelor de laborator. Pentru a stabili diagnosticul este necesar un atent istoric al călătoriei, perioada de incubaţie, semne şi simptome asociate, durata febrei, imunizările înaintea călătoriei, utilizarea profilaxiei antimalarice şi complianţa la aceasta. Estimarea corectă a perioadei de incubaţie poate să ajute în excluderea anumitor cauze de febră.
- Sindromul febril la călătorii întorşi din zonele endemice cu malarie constituie o urgenţă medicală şi necesită investigaţii pentru excluderea infecţiei cu *P. falciparum* care poate fi fatală dacă nu este descoperită şi tratată din timp.

BIBLIOGRAFIE

1. Ryan ET, Wilson ME, Kain KC. Illness after international travel. *N Engl J Med* 2002 ; 347 : 505-516.
2. Caumes E. *Health and Travel.* Aventis Pasteur 2000 Edition.
3. Hill DR. Health problems in a large cohort of Americans travelling to developing countries. *J Travel Med* 2000 ; 7 : 259-266.
4. Ansart S, Perez L, Vergely O et al. Illnesses in travelers returning from the tropics : a prospective study of 622 patients. *J Travel Med* 2005 ; 12 : 312-318.
5. Freedman DO, Weld LH, Kozarsky PE et al. Spectrum of the disease and relation to place of exposure among ill returned travellers. *N Engl J Med* 2006 ; 354 : 119-130.
6. Steffen R, DuPont HL. *Manual of Travel Medicine and Health.* Hamilton : Decker, 1999.
7. Yung AP, Ruff T. Infections in returned travellers and immigrants. In : Yung AP, McDonald MI, Spelman DW editors. *Infectious Diseases : A Clinical Approach.* Melbourne : Royal Melbourne Hospital, 2001, 366-377.
8. MacLean JD, Lalonde RG, Ward B. Fever from the tropics. *Travel Med Advisor* 1994 ; 27 : 1-14.
9. O'Bryan D, Tobin S, Brown G et al. Fever in returned travelers : review of hospital admissions for a 3-year period. *Clin Infect Dis* 2001 ; 33 : 603-609.
10. Dorsey G, Ghandi M, Oyughi JH, Rosenthal PJ. Difficulties in the prevention, diagnosis and treatment of imported malaria. *Arch Intern Med* 2000 ; 160 : 2505-2510.
11. Jelinek T. Dengue fever in returned travellers. *Clin Inf Dis* 2000 ; 31 : 144-147.
12. Isaacson M. Viral hemorrhagic fever hazzards for travelers in Africa. *Clin Inf Dis* 2001 ; 33 : 1707-1712.
13. Habib NA, Behrens RH. Respiratory infections in the traveler. *Curr Opin Pulm Med* 2000 ; 6 : 246-249.
14. Doherty JF, Grant AD, Bryceson AD. Fever as the presenting complaint of travellers returning from the tropics. *QJM* 1995 ; 88 : 277-281.
15. Mattelli A, Carosi G. Sexually transmitted diseases in travelers. *Clin Inf Dis* 2001 ; 32 : 1063-1067.

NOUTĂŢI

INFLUENŢA PARTICULELOR DE PRAF ASUPRA MIŞCĂRILOR CILILOR DIN CĂILE AERIENE SUPERIOARE ÎN RELAŢIE CU PROVENIENŢA PRAFULUI

Lucrătorii din crescătoriile de porci prezintă risc crescut pentru boli ale căilor aeriene, printre care rinosinuzita cronică şi bronşita cronică. Wyat et al. au arătat că expunerea celulelor epiteliale bronşice bovine în cultură la praf recoltat din crescătoriile de porcine stimulează sinteza oxidului nitric şi cresc frecvenţa de bătaie a cililor, dar previne stimularea mişcării cililor indusă de beta agonişti. Aceste date demonstrează că praful din crescătoriile de porcine reduce efectul stimulant al inhalării particulelor de praf asupra clearance-ului mucociliar (Wyatt TA, Sisson JH, Von Essen SG, Poole JA, Romberger DJ. Exposure to hog barn dust alters airway epithelial ciliary beating. *Eur Respir J* 2008 ; 31 (6) : 1249-1255).

Irina Dumitriu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

STUDIU TRANSVERSAL ASUPRA LEPTOSPIROZELOR INTERNATE ÎN SPITALUL CLINIC DE BOLI INFECŢIOASE IAŞI PE O PERIOADĂ DE 5 ANI

Mihaela Cătălina Luca[1], Doina Mihalache[1], Carmen Dorobăţ[1], Cristina-Mirela Petrovici[2], Mariana Varlan[3], V. Luca[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica de Boli Infectioase
2. Spitalul Clinic de Boli Infecţioase Iaşi
3. Institutul de Igienă şi Sănătate Publică Iaşi

TRANSVERSAL STUDY ON THE CASES OF LEPTOSPIROSIS DISEASES ADMITTED IN THE CLINIC OF INFECTIOUS DISEASE IAŞI ON 5 YEARS PERIOD (Abstract): Leptospirosis is a zooantroponosis manifested as an infection with a severe evolution, with liver and renal failure and haemoragic manifestation.The aim of the study was to present the epidemiologic, clinic and therapeutical aspects of 100 cases of leptospirosis admitted in the clinic of Infectious Diseases of Iaşi, during 5 years (2002-2006). **Material and method**: The diagnostic was based on the clinical-biologic study and risk factors with febrile syndrome, mialgic syndrome, headache, meningial, liver and renal failure and hematological syndromes, with the serologic evidence of serotypes of leptospirosis. **Results**: All the patients were serologic confirmed with leptospirosis. Leptospirosis is an emergent disease with the possibility of severe evolution in some forms, with lever and renal failure. **Key words**: LEPTOSPIROSIS, LIVER AND RENAL FAILURE, MIALGIC

Leptospirozele sunt zooantroponoze răspândite pe tot globul şi incidenţă crescândă în ţara noastră. Se manifestă ca boli infecţioase acute şi se transmit direct sau prin elemente de mediu de la animale la om.

Scopul lucrării a fost evidenţierea aspectelor epidemiologice clinice şi de terapie a cazurilor de leptospiroze internate în Clinica de Boli Infecţioase Iaşi în perioada 2002-2006.

Focalitatea naturală este reprezentat de zonele mlaştinoase şi în arealele de habitat ale rozatoarelor; rezervorul natural fiind reprezentat de şobolani - gazdele de menţinere pentru diferitele serovaruri ale genului Leptospira în zona Moldova.

Focarul domestic antropurgic este reprezentat de animale domestice (bovine, porci, cai, câini) şi rozătoare sinantrope.

Există relaţii de afinitate atât între serovar şi gazda permanentă cât şi între serovar şi gazda accidentală: *L. icterohaemorrhagiae* pentru şobolan (*Rattus norvegicus*), *L. grippothyphosa* pentru şoareci Microtus, *L. hebdomadis* pentru şoareci *Apodemus*, *L. sejroe* şi *L. wolfii* pentru genurile *Apodemus* şi *MUS*. *L. canicola* infectează câinii, *L. pomona* porcii, caii şi cornutele mari fiind infectate în special cu *L .tarasovi*, *L. sejroe*, *L. grippothyphosa* şi *L. hebdomadis*.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul a fost realizat retrospectiv pe 100 de pacienţi, diagnosticaţi cu leptospiroză în Spitalul Clinic de Boli Infecţioase Iaşi, prin urmărirea parametrilor: sex, vârstă, mediu de provenienţă, factori de risc, ocupaţii susceptibile de contact cu surse de agent patogen, precum şi manifestările clinice, diagnosticul, tratamentul şi evoluţia clinică. u fost studiate formele clinice de boală care au asociat sindroamele:

- febril-mialgic
- hepato-renal
- hemoragic
- meningian
- cardiovascular

Au fost urmărite în dinamică constantele serice, hemoleucograma, examenele radiologice pulmonare, examenul lichidului cefalo-rahidian şi/sau electrocardiograma.

REZULTATE

Lotul studiat a cuprins 100 de pacienţi cu leptospiroza, dintre care 91 de sex masculin şi 9 de sex feminin.

Repartizarea cazurilor pe ani calendaristici poate fi urmărită în tabelul I, cele mai multe cazuri fiind în anul 2002.

Îmbolnăvirea de leptospiroză a survenit mai frecvent în anotimpul cald, totalizând 65% din cazuri.

Pacienţii au prezentat vârste cuprinse între 18 şi 68 de ani, incidenţa maximă fiind la grupa de vârstî a adulţilor 31-40 ani, cu 30% cazuri, urmată de grupa de vârstă 51-60 ani cu 22% cazuri; comparativ cu grupa de vârstă 10-20 ani (5%) şi a vârsticului >60 ani cu 10% cazuri.

Relaţia dintre profesie şi imbolnăviri reţine atenţia prin predominanţa meseriilor ce predispun la îmbolnăvire prin contact direct cu sursa de agent patogen, 56% fiind agricultori şi 50% dintre cei din mediul urban fiind: instalatori, topografi, muncitori din abatoare, piscicultori.

Dintre manifestările clinice de la debut au reţinut atenţia: sindromul febril şi mialgic la toţi pacienţii, cefalee în 80% dintre cazuri. Adresabilitatea la medic a fost la 7-10 zile de la debutul bolii.

În perioada de stare a bolii 44 de pacienţi prezentau sindrom hepato-renal, cu intens icter sclero-tegumentar şi oligurie cu colestază intrahepatică, cu valori ale bilirubinei totale între 200-300 mg‰ (23% cazuri) şi >300 mg‰ (21% cazuri). Citoliza hepatică a fost relevată prin valori ridicate ale transaminazei (TGP >800 u.i/L la 10% pacienţi la care boala a evoluat în contextul existenţei unor hepatite cronice (8 cazuri cu virus B, un caz cu asociere

TABELUL I

Repartiţia cazurilor pe ani calendaristici

Anul	Nr. cazuri	Urban	Rural
2002	30	15	15
2003	18	8	10
2004	14	7	7
2005	22	9	13
2006	16	7	9

TABELUL II

Repartiţia cazurilor pe ani şi pe grupe de vârstă

Vârsta (ani)	2002	2003	2004	2005	2006	Total (%)
10-20	2	0	0	1	2	5%
21-30	6	4	3	3	24	18%
31-40	12	5	3	6	3	30%
41-50	4	3	2	5	2	17%
51-60	4	4	4	6	1	22%
>60	2	2	2	1	1	10%

virus B şi virus C şi un caz cu ciroză hepatică).

Insuficienţa renală s-a situat pe primul plan al tabloului clinic, fiind prezentă în 76% din cazuri, cu oligurie şi retenţie azotată importantă (valori ale creatininei serice >3 mg% în 12% cazuri, impunând dializa). Anuria a marcat evoluţia formelor grave de leptospiroză cu icter sever şi hemoragie.

Toate cele 44 de cazuri cu forme severe de boală au prezentat asocierea sindromului hepato-renal cu sindrom hemoragic şi sindrom meningian.

Sindromul hemoragic a fost prezent în 44 cazuri, manifestându-se prin gingivoragii (18%), epistaxis (20%), hematemeză şi/sau melenă (26%); concomitent cu instalarea trombocitopeniei 10.000-5.000/mm^3, urmate brusc de trombocitoză până la 650.000/ mm^3.

Sindromul meningian s-a manifestat biologic prin modificări ale lichidului cefalorahidian (12-400 elemente/mm^3) cu predominanţa limfocitară şi uşoară albuminorahie (până la 1g/L).

Diagnosticul serologic s-a realizat prin test latex-aglutinare urmat de reacţia de aglutinare microscopică (RAM) pe dublă serologie.

S-au identificat serotipurile: *icterohemohragiae* (25), *wolfii* (10), *hebdomadis* (3), *canicola* (3), *sejroe* (2), *bataviae*(1).

Dinamica titrului de anticorpi serici a identificat forme severe de boală, de la titruri de 1/400 (pentru *L. canicola*), nivele de 1/6400 până la 1/25600 (pentru *L. hebdomadi*) şi *L. sejroe*) şi respectiv de la 1/600 până la 1/12800 pentru *L. wolfii*. Pentru *L. icterohaemorhagiae* au fost titruri de la 1/800 până la 1/12800.

Un număr de 56 pacienţi au prezentat forme uşoare şi medii de boală, diagnosticul serologic identificând serotipurile: *icterohaemorhagiae* (30), *wolfii* (16), *sejroe* (3), *pomona* (3), *grippothyphosa* (4).

Momentul de instituire a tratamentului obiectivat prin titrul iniţial de anticorpi serici a fost precoce (titruri de 1/200-1/400) la peste jumătate dintre aceşti pacienţi (32), dar s-a obţinut un răspuns terapeutic favorabil chiar la valori iniţiale de 1/800-1/1600 faţa de serotipul *icterohaemorhagiae* (24 pacienţi).

Pacienţii cu forme uşoare şi medii de boală s-au externat amelioraţi, în medie după două săptămâni de spitalizare.

DISCUŢII ŞI CONCLUZII

Studiul present, pe 100 de pacienţi cu leptospiroză din zona Moldovei în ultimii cinci ani, relevă predominanţa bolii la sexul masculin (91%), mediul rural (56%) şi a cazurilor cu vârste cuprinse între 30-50 ani (47%).

S-au identificat serotipurile: *ictero-haemoragiae* (55%), *wolfii* (26%), *sejroe* (5%), *grippothyphosa* (4%), *pomona* (3%), *hebdomadis* (3%), *canicola* (3%) şi *botaviae* (1%).

Rezultatele noastre concordă cu studiile actuale epidemiologice privind caracteristicile zooantroponozelor din Moldova: focarele de infecţie cu *L. pomona* ca agent etiologic sunt în regresie; apariţia în ultimul deceniu a unei surse urbane de leptospiroză (reprezentată de câinii comunitari).

Problema contaminării interumane pare sa fie doar teoretic posibilă, deoarece practic în perioada de leptospiremie, leptospirele sunt reduse numeric în sânge şi uneori în umori, iar în bacteriurie sunt slab patogene.

Cunoaşterea serotipului în leptospiroze prezintă importanţă majoră în investigare epidemiologică, inclusiv epizootologică.

Formele uşoare şi medii de boală (56%) prin raportare la incidenţele totale ale serotipurilor, au fost produse de către 54% din cele cu *L. wolfii*, de 60% dintre *L. sejroe*, iar serotipurile *pomona* şi *grippothyphosa* au produs forme moderate de îmbolnăvire.

Cele 44%cazuri cu leptospiroză formă severă au prezentat asociere de sindrom hepatorenal de la debut, cu diferite grade de sindrom hemoragic şi meningită seroasă.

Serotipurile ce au produs formele severe au fost *L. canicola*, *hebdomandis*, *bataviae* şi sub 50% din incidenţa totală a celorlalte serotipuri (45% dintre *L. icterohemoragice*, 38% dintre *L. wolfii*, 40% dintre *L. sejroe*).

Evoluţia sub terapie a tuturor pacienţilor a fost favorabilă în 88% de cazuri şi au necesitat dializă 12 cazuri.

BIBLIOGRAFIE

1. Doudier B, Garcia S, Quenne V. Prognostic factors associated with severe leptospirosis. Clin Microbiol Infect 2006; 12 (4): 299-300.
2. Faing S, Adler B, Bolin B, Perolat P. *Leptospira and leptospirosis*. 2nd ed. New York: Mc.Grow-Hill Inc, 740-743.
3. Marcus LC, Marcus G. Nosocomial zoonoses. *N Engl J Med* 1998; 21 (2): 335-357.
4. Snford JP. Leptospirosis. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York: McGrow-Hill Inc, 2005, 740-743.
5. Tappiro J, Ashford D, Percins N. Leptospira species (Leptospirosis). In: Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia: Churchil Livingstone, 2000, 2495-2500.

NOUTĂŢI

ERITROPOIETINA ÎN TRATAMENTUL FIBROZEI PULMONARE

Chimioterapia determină multiple efecte secundare (frecvent fibroza pulmonară) la pacienţii suferinzi de cancer sau boli autoimmune. *Sigounas* şi colab. au observat că eritropoietina, pe lângă stimularea eritropoiezei, mai poate acţiona şi pe celule non hematopoietice, cum ar fi celulele endoteliale sau macrofagele alveolare din ţesutul pulmonar. Autorii au investigat relaţia dintre fibroza pulmonară indusă de bleomicină (citostatic) şi eritropoietină pe un lot de şoareci observând o reducere de până la 6 ori a numărului de celule endoteliale (indicator de activare celulară şi inflamaţie) şi o creştere de aproximativ 2 ori a numărului de celule endoteliale ICAM1-pozitive în secţiunile histologice de ţesut pulmonar provenit de la şoarecii trataţi cu eritropoietină. Efectul benefic al eritropoietinei s-a reflectat şi în descreşterea de până la 5 ori a fibrozei interstiţiale şi în dispariţia totală a hiperplaziei macrofagelor alveolare la şoarecii trataţi cu bleomicină. Aceste date sugerează o nouă posibilitate terapeutică pentru eritropoietină ca ameliorator al fibrozei pulmonare şi al leziunilor endoteliale induse de agenţii chimioterapeutici (Sigounas G, Salleng KJ, Mehlhop PD, Sigounas DG. Erythropoietin ameliorates chemotherapy-induced fibrosis of the lungs in a preclinical murine model. *Int J Cancer* 2008; 122 (12): 2851-2857).

Irina Dumitriu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

CERCETĂRI EPIDEMIOLOGICE, RETROPROSPECTIVE, ASUPRA CAZURILOR DE TOXOCAROZĂ LA COPIII SPITALIZAŢI ÎN PERIOADA 2005-2008

Mariana Luca[1], Roxana-Gabriela Bahnea[1], Mioara Matei[2], E. Cârdei[3], Ortansa Stoica[4]
Facultatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Parazitologie
2. Disciplina de Asistenţă Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie
3. Clinica a III-a Pediatrie
4. Disciplina de Genetică

RETROPROSPECTIVE EPIDEMIOLOGICAL RESEARCH ON TOXOCARIASIS CASES HOSPITALISED IN THE PAEDIATRIC DISEASES CLINIC OF IAŞI, BETWEEN 2005-2008 (Abstract) : The authors presents the results of a retroprospective epidemiological study on toxocariasis cases admitted in the Paediatric Diseases Clinic of Iaşi, between January 2005 - June 2008. **Material and method** : The study included a number of 228 children. **Results** : The age distribution highlighted a predominance of 3-7 years of age group (46.9%) ; sex distribution, a significant predominance in males (53.5%) and a small advance the rural areas (54.3%) given the urban areas (45.6%). The present study lead to a spring-autumn seasonality. A high risk for infection is the dog (41.2%). The distribution of toxocariasis in children patients in Moldavia, Romania, highlighted a predominance in Iaşi county (45.6%). **Key words** : PARASITES, NEMATODE, TOXOCARA, HUMAN TOXOCARIASIS, EPIDEMIOLOGY

Toxocaroza este o boală parazitară produsă de localizarea în ţesuturile umane a larvelor de nematode din genul *Toxocara*. Agentul etiologic este, în general, *Toxocara canis*. Rezervorul de parazit în natură este reprezentat de câini. Câinii contaminează mediul exterior cu ouăle elimate prin materiile fecale (1).

Toxocaroza pe glob are o răspândire cosmopolită. Prevalenţa toxocarozei este crescută în ţările mai putin dezvoltate, în special în zonele rurale şi de asemenea în unele insule tropicale ; de asemenea toxocaroza umană este frecvent întalnită în zonele unde există un număr mare de caini infectaţi cu *Toxocara canis* (2,3,4,5).

Toxocaroza este o infecţie care poate avea urmări foarte grave. Ea se transmite foarte uşor de la câine la om, iar locurile cele mai infectante sunt chiar locurile de joacă pentru copii. În România sunt în continuare mulţi câini, boala având o incidenţă crescută printre şcolari (6,7,8).

Factorii care cresc riscul infectării sunt : contactul direct şi repetat cu câini, în special cei mai mici de trei luni, geofagia, igiena deficitară, condiţii socio-economice precare. Gravitatea bolii depinde de numărul larvelor, localizarea lor şi de răspunsul imun al gazdei (9,10,11).

MATERIAL ŞI METODE

Scopul studiului a fost prezentarea cazurilor de toxocaroză la copil, care au fost spitalizate în Clinica de Pediatrie, Spitalul Clinic de Urgenţă pentru copii "Sf. Maria" Iaşi în perioada ianuarie 2005 - iunie 2008. Studiind internările clinicii, care cel mai adesea concentrează patologia specifică din toată Moldova, am reuşit să constituim un eşantion reprezentativ statistic, care să ne prezinte concluzii pertinente.

Am efectuat un studiu pe 228 pacienţi de vârstă pediatrică. Studiul a fost retrospectiv, am analizat foile de observaţie ale pacienţilor din punct de vedere epidemiologic, clinico-biologic şi al evoluţiei sub tratament.

Metodele de culegere, prelucrare şi interpretare a informaţiilor au fost epidemiologice, statistice, matematice şi cu utilizarea calculatoarelor şi a instrumentelor software adecvate.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

1. Distribuţia anuală a cazurilor de toxocaroză la copil. În cei 4 ani incluşi în studiu, s-au internat cu diagnosticul de toxocaroză , 228 copii, cu cele mai multe cazuri (70) în anul 2006 şi numai 42 în anul 2007. În ceilalţi ani numărul cazurilor internate pentru toxocaroză a fost de 68 în anul 2005 şi de 48 în anul 2008, luna iunie inclusiv.

2. Repartiţia pe sex. Repartiţia pe sex a valorilor prevalenţei înregistrată în studiul nostru arată o predominanţă a sexului masculin, faţă de cel feminin. Din cei 228 pacienţi, 122 au fost de sex masculin (53,5%) şi un număr de 106 pacienţi de sex feminin (46,45%). Acest aspect este evident atât cumulativ pentru cei patru ani, cât şi în analiza anuală a cazurilor internate cu toxocaroză.

3. Repartiţia pe medii a evidenţiat diferenţe, în favoarea mediului rural, în trei ani din cei patru luaţi în calcul. Se remarcă o pondere mai mare a bolnavilor provenind din mediul rural, un număr de 124 copii (54,3%), faţă de cei din mediul urban, 104 copii (45,6%).

4. Repartiţia pe grupuri de vârstă. Grupa de vârstă 3-7 ani şi grupa de vârstă 1-3 ani au fost cele mai afectate, 107 cazuri (46,9%), respectiv 60 cazuri (26,3%).

Din cei 228 bolnavi care compun lotul de studiu, diagnosticul a fost precizat în 36 de cazuri (15,7%) la grupa de vârstă 7-12 ani, la grupa de vârstă 12-15 ani, 12 cazuri (5,2%) şi 10 cazuri (4,3%) la grupa de vârstă 15-18 ani. Vârsta sugarului nu a înregistrat nici un caz.

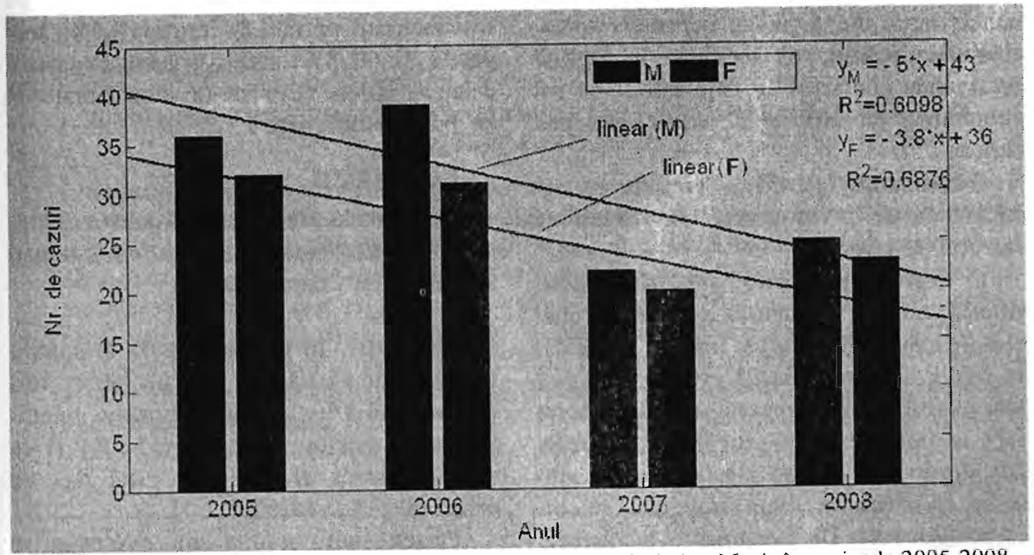


Fig. 1. Repartiţia pe sex a cazurilor de toxocaroză la copil în judeţul Iaşi, în perioada 2005-2008

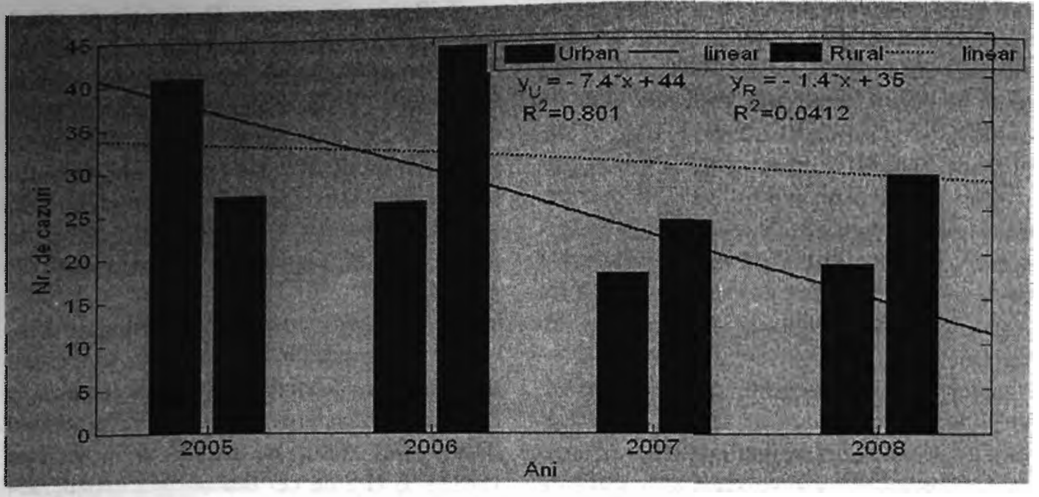


Fig. 2. Repartiţia cazurilor după mediul de provenienţă

5. Repartiţia cazurilor de toxocaroză la copil după criteriul factori de risc. Principala cauză de imbolnăvire o reprezintă contactul cu câinele, în proporţie de 41,2%. Se poate observa că în funcţie de vârstă contactul cu câinele apare mai frecvent la vârsta 3-7 ani.

Fenomenul pica apare la 40 de bolnavi (17,5%) din cei 228 internaţi iar în proporţie de 28,9% factorul de risc este necunoscut. Trebuie subliniat faptul că un număr mare din copii au un status socio-economic scăzut, că locuiesc în mediul rural unde contactul cu căţeluşii şi cu sol contaminat cu ouă de *T. canis* este mai ridicat.

Din analiza foilor de observaţie 66 din cazuri nu au putut preciza cu exactitate factorul de risc .

6. Repartiţia cazurilor după anotimpuri calendaristice. Toxocaroza s-a întâlnit mai ales primăvara (29,8%) şi toamna (28,9%). În lunile de vară şi iarnă expunerea a fost mai redusă, 21,1% , respectiv 25,4%. Acest fapt se poate explica prin faptul că ouăle pot supravieţui ani de zile în mediul ambiant, în zonele cu climă temperată, în ciuda iernilor reci. De asemenea, s-a semnalat faptul că ouăle de Toxocara pot rezista în condiţii de aerobioză şi anaerobioză, realizate în instalaţiile moderne de purificare a apelor reziduale, menţinându-şi puterea infectantă.

7. Analiza epidemiologică pentru cei patru ani, a evidenţiat faptul că în judeţul Iaşi s-au internat un număr de 104 cazuri (45,6%) dintr-un total de 228 ocupând un prim loc în distribuţia bolii pentru cele 8 judeţe din Moldova. Se mai poate observa faptul că din judeţele Neamţ şi Suceava au fost internaţi un număr de 40 (17,5%) respectiv 27 (11,8%) copii, urmând ca pentru celelalte judeţe să existe un număr mai mic de bolnavi internaţi.

CONCLUZII

În perioada ianuarie 2005 - iunie 2008, în Clinica de Pediatrie Iaşi au fost internaţi 228 copii cu toxocaroză.

Cumulativ, în perioada luată în studiu, grupurile de vârstă cele mai afectate au fost 3-7 ani (46,9%), cu predominanţa semnificativă a sexului masculin (53,5%) şi cu un uşor avans al mediului rural faţă de urban (54,3% / 45,6%).

Pentru lotul studiat s-a evidenţiat o sezonalitate de primavară-toamnă. 28% din

total, iar principala cauză de îmbolnăvire o reprezintă contactul cu câinele (41,2%).

În ceea ce priveşte evoluţia toxocarozei la copil în zona Moldovei se poate observa că numărul cel mai mare de cazuri s-au înregistrat la copii din judeţul Iaşi (45,6%).

BIBLIOGRAFIE

1. Magnaval JF, Glickman LT, Dorchies P, Morassin B. Highlights of human toxocariasis. *Korean J Parasit* 2001 ; 39 : 1-11.
2. Taylor MRH, Holland CV. Toxocariasis. In : Gillespie S, Pearson RD editors. *Principles and Practice of Clinical Parasitology*. Chichester : John Wiley & Sons, 2001, 501-519.
3. Kaplan M, Kaplan A, Hosoglu S et al. The frequency of Toxocara infection in mintal retarded children. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2004 ; 99 : 121-125.
4. Finsterer J, Auer H. Neurotoxocarosis. *Rev Inst Med Trop S. Paulo* 2007 ; 49 (5) : 279-287.
5. Xinou E, Lefkopoulos A, Gelacoti M et al. CT and MR imaging findings in cerebral toxocaral disease. *Am J Neuroradiol* 2003 ; 24 : 714-718.
6. Creţu CM. *Toxocara spp. şi toxocaroza umană*. Bucureşti : Ed. Universitară Carol Davila, 2002, 28-36.
7. Rădulescu S. *Parazitologie medicală*. Bucureşti : Ed. All Educational, 2000, 330-335.
8. Lewis WJ. Toxocara : the enigmatic parasite. Wallingford : CABI Publishing, 2006, 195-211.
9. Glickman LT, Schanty PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiol Rev* 1981 ; 3 : 230-250.
10. Stefancikova A, Dubinsky P. *Surveillance of Zoonoses. Helminthozoonoses of the Slovak Republic 2004*. Bratislava : Ed. State Veterinary and Food Administration of the Slovak and Parazitological Institute of the Slovak Academy of Sciences, 2005, 1-17.
11. Sadjjadi SM, Khosravi M, Mehrabani D, Orza A. Seroprevalence of Toxocara infection in schoolchildren in Shiraz, southern Iran. *J Trop Ped* 2000 ; 46 : 327-330.

NOUTĂŢI

SAPONINE TRITERPENICE CU PROPRIETĂŢI ANTIINFLAMATOARE DIN *POLYGALA JAPONICA*

În medicina tradiţionala chineza *Polygala japonica* Houtt (*Polygalaceae*, Gua-zi-jin) este utilizata în tratamentul unor afecţiuni inflamatorii (tonsilita acuta, faringita, mielita, nefrita). Din extractul metanolic obţinut din parţile aeriene ale plantei Wang et al. au izolat şase saponozide triterpenice derivate de bayogenol, acid medicagenic şi acid oxo-olean-dioic. Acţiunea antiinflamatoare a saponinelor izolate a fost evidenţiata prin testul inflamaţiei labei de şobolan indusa prin carrageenan. O saponozida cu structura de tip bayogenol a inhibat producţia de mediatori proinflamatori (NO) de catre macrofagele RAW264.7 stimulate cu lipopolizaharida (LPS) fara a afecta viabilitatea macrofagelor. Rezultatele obţinute justifica utilizarile plantei în medicina tradiţionala chineza (Wang H, Gao J, Kou J, Zhu D, Yu B. Anti-inflammatory activities of triterpenoid saponins from *Polygala japonica*. *Phytomedicine* 2008 ; 15 : 321-326).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

ASPECTE CLINICE, COMPUTERTOMOGRAFICE ŞI ANATOMOPATOLOGICE ÎNTÂLNITE ÎN LEZIUNILE SPAŢIULUI PARAFARINGIAN

Danisia Haba[1], Anca Indrei[2], Gabriela Dumitrescu[3], Liliana Foia[4], Ana Elena Petcu[5]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
1. Disciplina de Radiologie
2. Disciplina de Anatomie şi Embriologie
4. Disciplina de Biochimie
5. Disciplina de Pedodonţie
Spitalul Clinic de Urgenţă "Prof. Dr. N. Oblu" Iaşi
3. Laboratorul de Anatomie patologică

CLINICAL, COMPUTER TOMOGRAFIC AND PATOLOGICAL FINDINGS OF PARAPHARYNGIAL SPACE LESIONS (Abstract): We present the clinical, computer tomografic and patological findings of current lesion of the parapharyngial space. **Material and method**: We retrospectivly analised the clinical, cross-sectional imaging files and the patological results for 33 patients explored during January 2006-March 2008 by a medical team at the "Prof. Dr. N. Oblu" Clinical Hospital. **Results**: In our study we didn't find primitive lesions in the parapharyngial space but, we explored 33 lesions extended in the parapharyngial space with origins around the parapharyngial space. The most frequent hystological types of tumor were represented by squamous cell carcinoma of nasopharyngs (n=22), followed by primitive lesions in to the infratemporal phosa (n=5). We had also 2 tumoral cases of the parotyd gland, one of the skull base and 3 facial fractures with involvement in to the parapharyngial space. **Conclusion**: The infiltrations of parapharyngial space by different lesions require Computer tomographic exams for a precise evaluation of the extension of the lesions, evenetual lymph node metastasis, the presence of tumoral recidive and the orientation to a imagistic diagnosis which will be confirmated by a patological exam. The multidisciplinary approach of these lesions will permit a proper terapeutical management to each case. **Key words**: CT IMAGING, PARAPHARYNGEAL SPACE LESIONS

Datorită conţinutului extrem de important al spaţiului parafaringian sau latero-faringian, ni se pare util un scurt rapel anatomic al acestuia.

Faringele are formă de jgheab, cu deschiderea anterior, motiv pentru care prezintă 3 pereţi: unul posterior şi doi laterali. Peretele posterior al faringelui vine în raport cu faţa anterioară a primelor 6 vertebre cervicale, căptuşite de aponevroza prevertebrală. Între faţa posterioară a faringelui (anterior), aponevroza prevertebrală (posterior) şi septurile sagitale ale lui Charpy (lateral) se delimitează spaţiul retro-faringo-esofagian al lui Hencke, în care se găsesc vase arteriale (reprezentate de ramuri ale arterei faringiene ascendente), venoase (reprezentate de vene faringiene care se varsă în plexul venos perifarngian) şi ganglionii limfatici retrofaringieni (1).

Pereţii laterali ai faringelui sunt împărţiţi de un plan orizontal virtual dus prin marginea inferioară a mandibulei în două porţiuni: una cefalică (superioară) situată deasupra acestui plan şi una cervicală (inferioară), situată dedesubtul acestu plan.

În porţiunea cefalică pereţii laterali ai faringelui vin în raport cu *spaţiul parafaringian sau latero-faringian*, cu formă de prismă triunghiulară, care prezintă trei pereţi:

- Peretele medial este constituit din peretele lateral al faringelui.
- Peretele lateral este format mergând dinainte înapoi de: ramura montantă a mandibulei, apoi de lama superficială a fasciei cervicale şi de muşchiul sterno-cleido-mastoidian şi teaca sa (2).
- Peretele posterior este format de fascia prevertebrală.

Spaţiul maxilo-faringian este traversat de la marginea anterioară a muşchiului sterno-cleido-mastoidian până la unghiul lateral al faringelui de o perdea osteo-musculo-facială numită diafragm stilian. Diafragmul stilian este constituit din:

- muşchi: burta posterioară a digastricului şi
- cei trei muşchi stilieni (stilo-hioidian, stilo-glos şi stilo-faringian)
- o fascie care întecuieşte aceşti muşchi, care îi leagă unul de altul şi de faringe. Această fascie a primit numele de aripioara faringelui sau fascia palatină stilo-faringiană.
- fascicule fibroase - ligamentele stiliene (stilo-hioidian şi stilo-mandibular) care întăresc aripioara faringelui.

Astfel constituit, diafragmul stilian împarte spaţiul maxilo-faringian în două părţi:

- una anterioară sau spaţiul prestilian şi
- una posterioară sau spaţiul retrostilian (3).

Spaţiul retrostilian conţine un fascicul vasculo-nervos voluminos format din:

- artera carotidă internă,
- vena jugulară internă,
- nervii cranieni IX, X, XI şi XII şi
- ganglionul simpatic cervical superior.

Spaţiul prestilian cuprinde două regiuni:

- una posterioară, în raport direct cu diafragmul stilian: regiunea parotidiană şi
- una anterioară, spaţiul subparotidian anterior.

Regiunea parotidiană cuprinde glanda parotidă şi elementele vasculo-nervoase care o traversează: artera carotidă externă cu porţiunea iniţială a ramurilor sale terminale (temporala superficială şi maxilara internă), vena jugulară externă (cu ramurile sale de origine), venele retromandibulă şi carotide externe, ganglionii limfatici parotidieni, nervul facial, auriculo-temporal şi câteva ramuri terminale din ramura auriculară a plexului cervical superficial.

Spaţiul subparotidian anterior conţine muşchiul stilo-glos, arterele palatină ascendentă şi faringiană ascendentă, nervul glosofaringian, nervii pentru muşchiul tensor al vălului palatin, muşchiul tensor al timpanului şi pentru muşchiul pterigoidian intern.

În porţiunea cervicală, un plan orizontal fictiv dus prin marginea superioară a cartilajului tiroid împarte pereţii laterali ai faringelui într-un segment inferior, unde faringele vine în raport cu pachetul vasculo-nervos al gâtului (artera carotidă comună, vena jugulară internă şi nervul vag) şi cu lobii tiroidieni şi un segment superior, unde pereţii laterali ai faringelui vin în raport cu ramurile de bifurcaţie ale carotidei primitive, vena jugulară internă, nervii X şi XII şi simpaticul cervical (4).

Deoarece se cunosc caracteristicile topografice ale afectării spaţiul parafaringian de către tumorile de vecinătate si anume

- ştergerea sau diminuarea grăsimii care alcătuieşte acest spaţiu,
- asimetria netă a spaţiului afectat în raport cu celălalt spaţiul parafaringian,

ne-am propus să analizam cele mai frecvente leziuni intalnite la acest nivel care au fost explorate timp de 3 ani în Clinica de Radiologie II, din Spitalul Clinic de Urgenţe „Prof. dr. N. Oblu" Iaşi.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am analizat retrospectiv dosarele imagistice ale unui număr de 33 de cazuri, cu vârste cuprinse între 6 si 74 de ani, selectate dintr-un lot de 178 leziuni cervico-faciale explorate CT în Clinica de Radiologie II din Spitalul Clinic de Urgenţă "Prof. Dr. N. Oblu " Iaşi într-o perioada de 3 ani (martie 2005- martie 2008). Cazurile selectate aveau vârste cuprinse între 4 şi 74 ani şi majoritatea locuiau în mediul urban. Aceste cazuri au fost introduse în studiu deoarece examenele computertomografice efectuate au evidenţiat existenţa unor leziuni tumorale sau pseudo-tumorale, sau a unor corpi străini prezenţi post-traumatic în regiunile profunde ale feţei. În cazul explorările computertomografice au fost studiate modificările anatomice induse de prezenţa leziunilor la nivelul spaţiului parafaringian sau la nivelul spaţiilor antomice vecine: fosa infratemporala, spaţiul retrofaringian, spaţiul parotidian sau baza craniului.

Pentru examinarea computer tomografică, CT Philips Aura (n=33 cazuri), s-au efectuat secţiuni axiale native, paralele cu palatul dur, având grosimea de 3/5 mm pornind de la baza craniului şi până la manubriul sternal. Am realizat reconstrucţii bidimensionale 2D în plan coronal şi sagital pentru cazurile la care se suspiciona o breşă osteo-durală sau o leziune care afectează baza craniului. Constantele folosite au fost: 120 kV, 100 mAs cu un câmp de 22 cm permiţând un studiu al regiunilor superficiale ale feţei până la măduvă spinării şi fosa cerebrală posterioară. S-a folosit de obicei, la aceste cazuri, o achiziţie cu o grosime a secţiunilor de 3 mm sau 5 mm, datele fiind reconstruite în matrice 512x 512. Pacientul a fost în decubit dorsal, strict de faţă, capul în poziţie indiferentă. Înclinarea stativului a fost calculată după modul radio de profil pentru a efectua secţiuni paralele cu palatul osos. Pentru extensii intracraniene s-au realizat secţiuni axiale făcute paralel cu palatul dur, pornind de la apexurile dentare ale dinţilor arcadei superioare şi până la vertex. Pentru cazurile cu corpi metalici în regiunile profunde ale feţei am folosit pentru analiza ferestre osoase şi tisulare de 3000 UH pentru a diminua artefactele metalice.

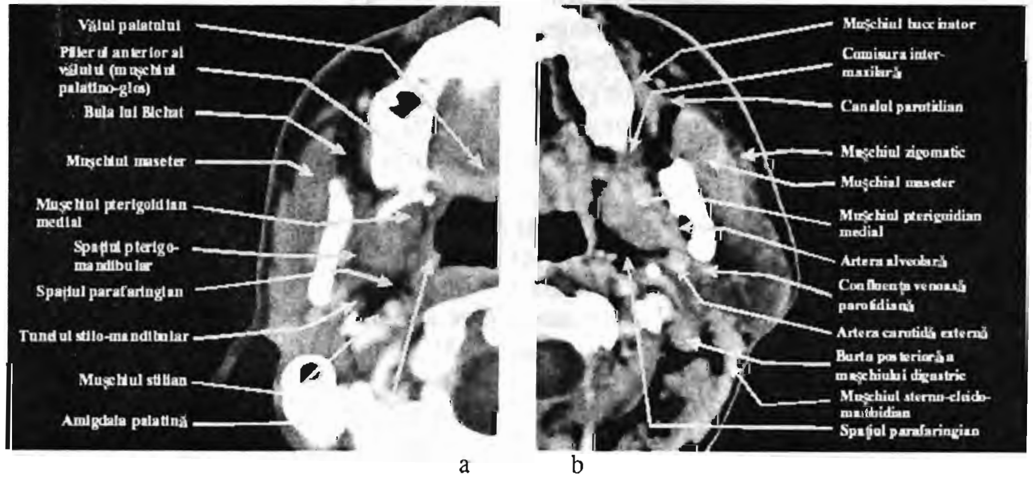

Vălul palatului
Pilerul anterior al vălului (muşchiul palatino-glos)
Bula lui Bichat
Muşchiul maseter
Muşchiul pterigoidian medial
Spaţiul pterigo-mandibular
Spaţiul parafaringian
Tunelul stilo-mandibular
Muşchiul stilian
Amigdala palatină
Muşchiul buccinator
Comisura inter-maxilară
Canalul parotidian
Muşchiul zigomatic
Muşchiul maseter
Muşchiul pterigoidian medial
Artera alveolară
Confluenţa venoasă parotidiană
Artera carotidă externă
Burta posterioră a muşchiului digastric
Muşchiul sterno-cleido-mastoidian
Spaţiul parafaringian
a
b

Fig. 1. Secţiuni CT axiale în fereastră de parţi moi. Apectul normal la examenul CT cu c.i.v. al spaţiului parafaringian si al spatiilor vecine, la nivelul porţiunii inferioare a fosei infratemporale(a) şi la nivelul orofaringelui (b)

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Cazurile analizate au fost clasificate în funcţie de rezultatul anatomopatologic şi centrul leziunii tumorale sau netumorale (5,6,7).

Tumori ale nazofaringelui

Dintre tumorile nazofaringelui analizate în acest studiu, cancerul nazofaringian a fost majoritar şi a prezentat extensii în spaţiu parafaringian 22 din cele 24 de cazuri studiate. Aceste tumorile maligne extinse prestilian au fost întâlnite la vârste cuprinse între 10 şi 74 de ani cu predominanţă la sexul masculin faţă de cel feminin în raport de 13/9.

În ce priveşte simptomatologia clinică, au fost întâlnite: simptome rinologice (epistaxis repetat n=9, obstrucţie nazală n=7), otologice (otalgie n=8,otite seroase unilaterale cu hipoacuzie de transmisie n=10), semne neurologice (cefalee n=17, nevralgie de trigemen n=6 şi chiar sindrom de gaură ruptă posterioară n=9). Doar 9 cazuri au prezentat adenopatii cervicale importante, spinale înalte sau inter-mandibulo-mastoidiene.

Din punct de vedere histologic cele 22 leziuni nazofaringiene extinse prestilian au fost: 21 carcinoame epidermoide nediferenţiate (fig. 2. a) şi un limfom malign non Hodgkin tip T (fig. 2. b).

Un chist retenţional postinflamator al mucoasei nazofaringelui care deplasa lateral grăsimea spaţiului PS (fig.3. a şi b), a fost interpretat imagistic ca o tumoră stadiu 2. Examenul clinic este în concordanţă cu aspectul imagistic dar este infirmat de rezultatul histopatologic.

Analiza imagistică a dosarelor

S-au identificat cele mai frecvente căi de extensie ale neoplasmelor nazofaringiene: anterior la nivelul foselor nazale, lateral în regiunile profunde ale feţei, superior la baza craniului, posterior în spaţiul retrofaringian şi inferior în orofaringe.

Examenele CT au putut diferenţia interesarea SPS în cele 3 stadii ale tumorilor maligne nazofaringiene cu extensie laterală:

- stadiul 2 (n=3 cazuri) în care tumora invadează lizereul grăsos parafaringian din faţa fosei infratemporale (n=3);
- stadiul 3 (n=3 cazuri) în care tumora trece de SPS şi dispare FIT prin invadarea completă a regiunii pterigoidienilor (n=5);

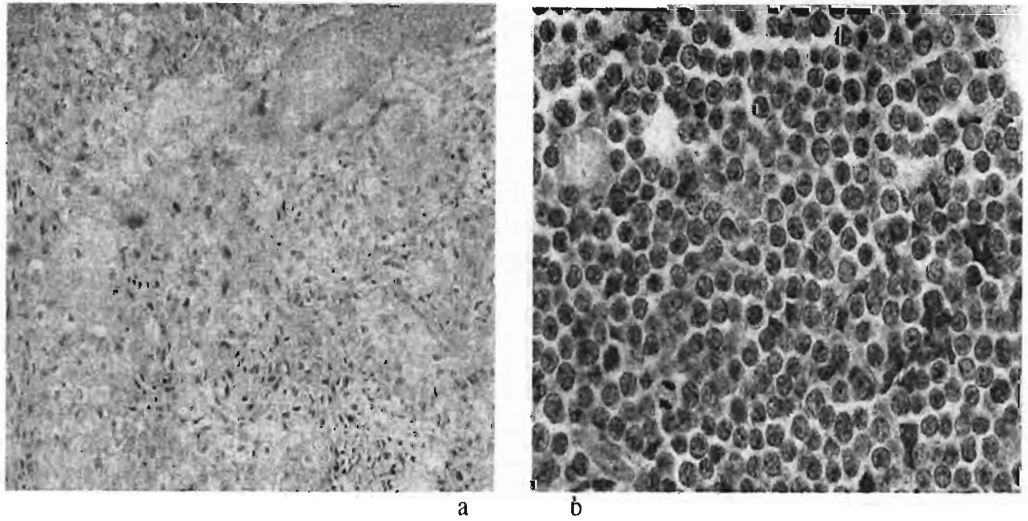


Fig. 2. Carcinom scuamos nediferenţiat (a) coloraţie HE (x100 HE); b) limfom limfoblastic tip T, coloraţie HE (x400 HE)

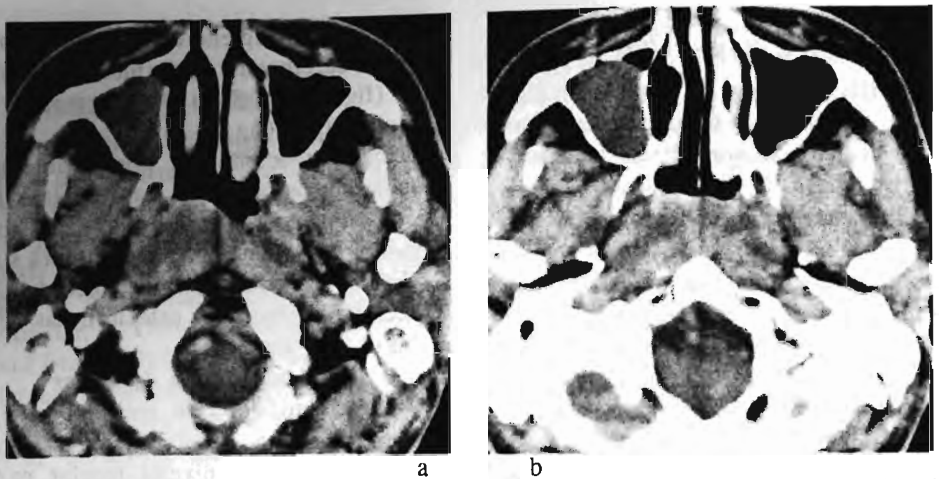


Fig. 3. Chist retenţional al mucoasei nazofaringelui. a) şi b) CT axial în fereastră de os evidenţiind leziunea hipodensă care obstruează foseta lui Rosenmuller şi deplasează lateral grăsimea spaţiului prestilian drept

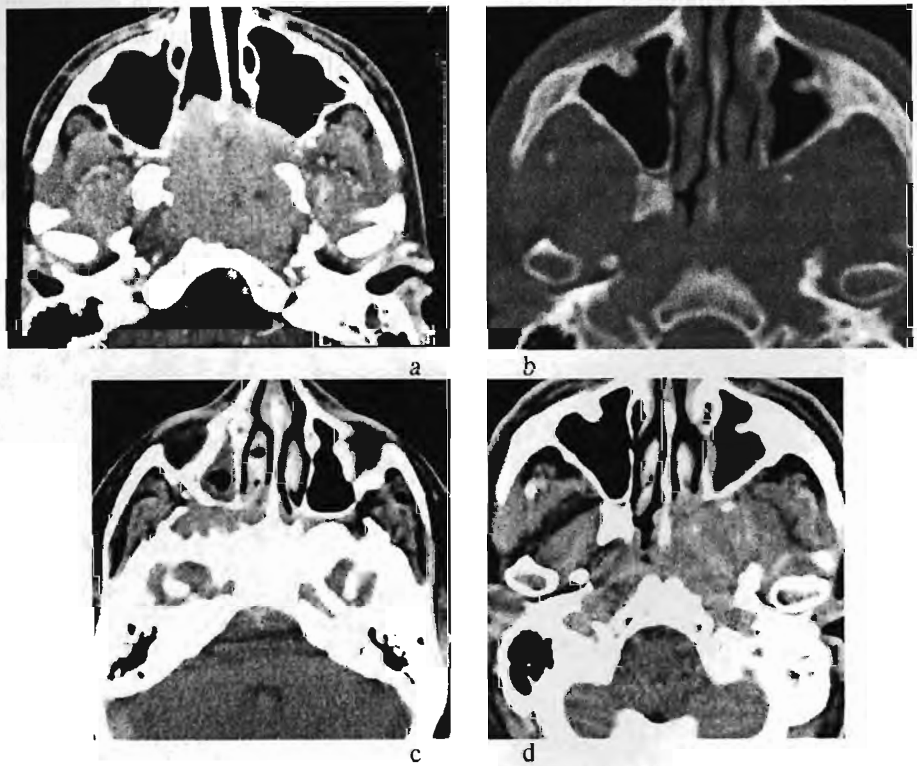


Fig. 4. Carcinom scuoamoas nediferenţiat nazofaringian ; a) CT axial în fereastră de părţi moi evidenţiind tumora moderat iodofilă extinsă anterior, lateral şi poaterior ; b) CT axial în fereastră de os. Tumora lizează apofiza pterigoidă stângă ; c) şi d) CT axial şi coronal în fereastră de os şi părţi moi evidenţiind tumora extinsă lateral în spaţiul prestilian, FIT, anterior în FPP şi fosele nazale şi posterior în clivus şi apexul temporal

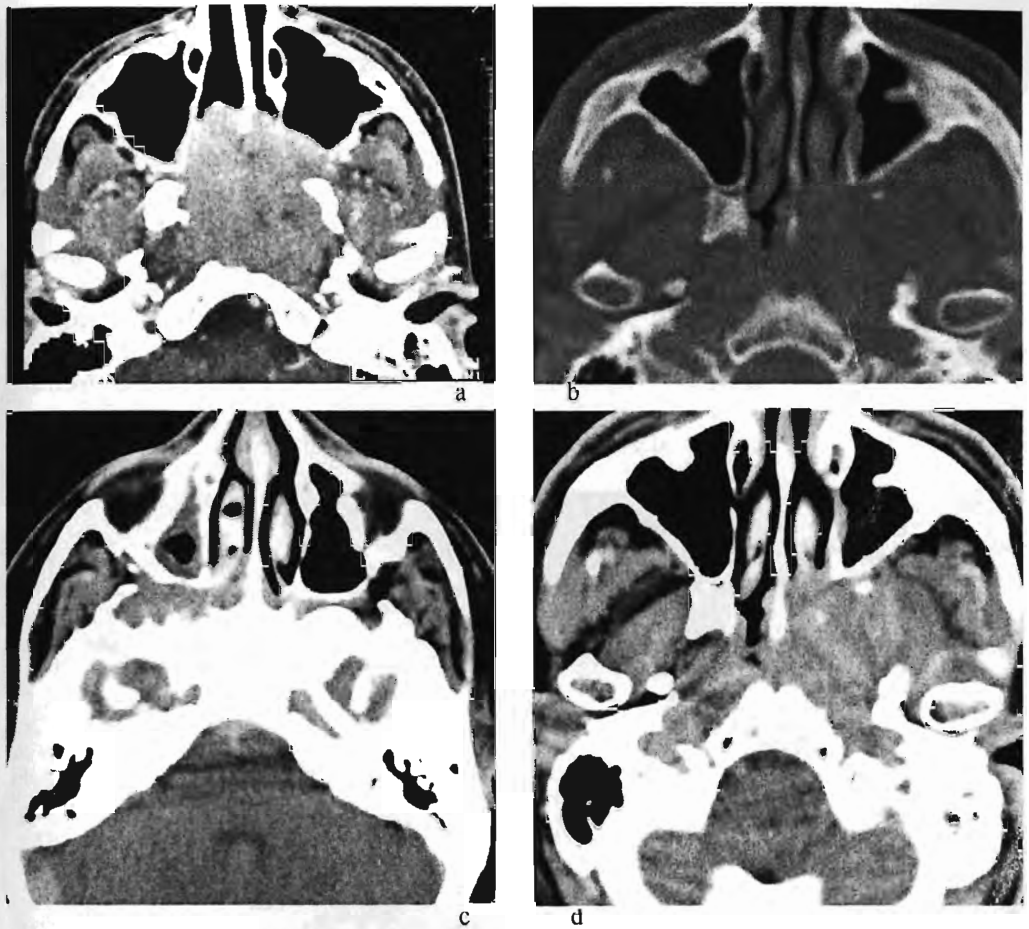


Fig. 5. Limfom nazofaringian ; a) CT axial în fereastră de părţi moi evidenţiind tumora moderat iodofilă extinsă anterior, lateral şi poaterior ; b) CT axial în fereastră de os. Tumora lizează apofiza pterigoidă stângă ; c) şi d) CT axial şi coronal în fereastră de os şi părţi moi evidenţiind tumora extinsă lateral în spaţiul prestilian, FIT, anterior în FPP şi fosele nazale şi posterior în clivus şi apexul temporal

· stadiul 4 (n=17 cazuri) în care leziunea se propagă anterior în bula lui Bichat., lateral în SPS şi profunzimea regiunii pterigoidiene a FIT, posterior la nivelul tunelului stilo-mandibular şi superior în clivus (n=5)., sinusul sfenoidal (n=7), foramen lacerum (n=7) şi foramen ovale (n=7).

Examenul CT a evidenţiat precis atât localizarea cât şi căile de extensie ale leziunii (fig. 4. şi fig.5.) : laterală (n=17) în FIT dar şi în spaţiul prestilian (n=22), anterioară (n=15), posterioară (n=13), superioară (n=12) şi inferioară (n=9). Am cercetat computertomografic recidivele la 6-12-18 luni de la aplicarea radioterapiei (n=9) şi prezenţa metastazelor (n=2).

Rezulatele analizete clinic-computertomografic şi anatomopatologic au fost asemănătoare cu cele existente în literatura de specialitate (6).

Tumori ale fosei infratemporale (FIT)

Tumorile maligne ale FIT au prezentat o extensie posterioară în spaţiul parafaringian în 5 cazuri.Cele cinci cazuri studiate originare în FIT şi extinse în spaţiul prestilian au fost: un fibrosarcom nediferenţiat, un fibromixom, două rabdomiosarcoame şi un schwanom malign.

Analiza imagistică a dosarelor

Primele observaţii au fost rabdomiosarcoame extensive, centrate la nivelul regiunii muşchilor pterigoidieni (fig. 6), infiltrate în ţesuturile moi adiacente dar prelungindu-se în toate direcţiile inclusiv parafaringian şi intracranian.

Cel de a treia observaţie a fost diagnosticată anatomo-patologic ca fiind un fibrosarcom nediferenţiat. El era dezvoltat în toate cele trei compartimente ale FIT, cu o extensie posterioară destul de fină în spaţiul prestilian şi consistentă la nivelul porţiunii superioare a spaţiului retrofaringian.

Cea de a patra leziune care la examenul anatomo-patologic s-a dovedit a fi un fibromixom, era situată la nivelul muşchilor pterigoidieni şi avea o extensie la nivelul spaţiului prestilian.

Un pacient în vârstă de 53 de ani care prezenta clinic rinoree seromucoasă, obstrucţie nazală bilaterală, rinolalie închisă, ameţeli, evoluând de 4 luni, a fost diagnosticat în urma examenului clinic cu tumoră parafaringiană dreaptă.

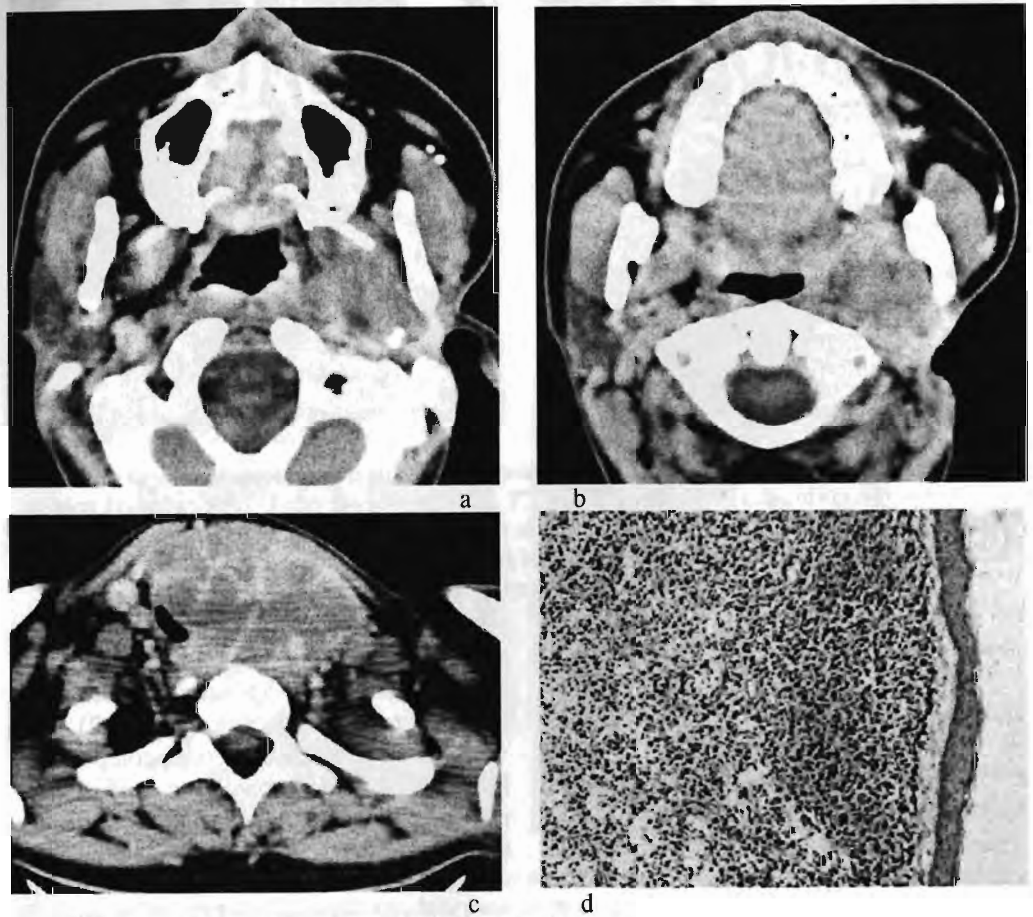


Fig. 6. Rabdomiosarcom latero-cervical stang. CT axial în fereastră de parţi moi la nivelul porţiunii superioare a spaţiului parafaringian (a,b), a porţiunii inferioare a acestui spaţiu şi aspectul anatomopatologic al rabdomiosarcomului embrionar (d) coloraţie HE (X90HE)

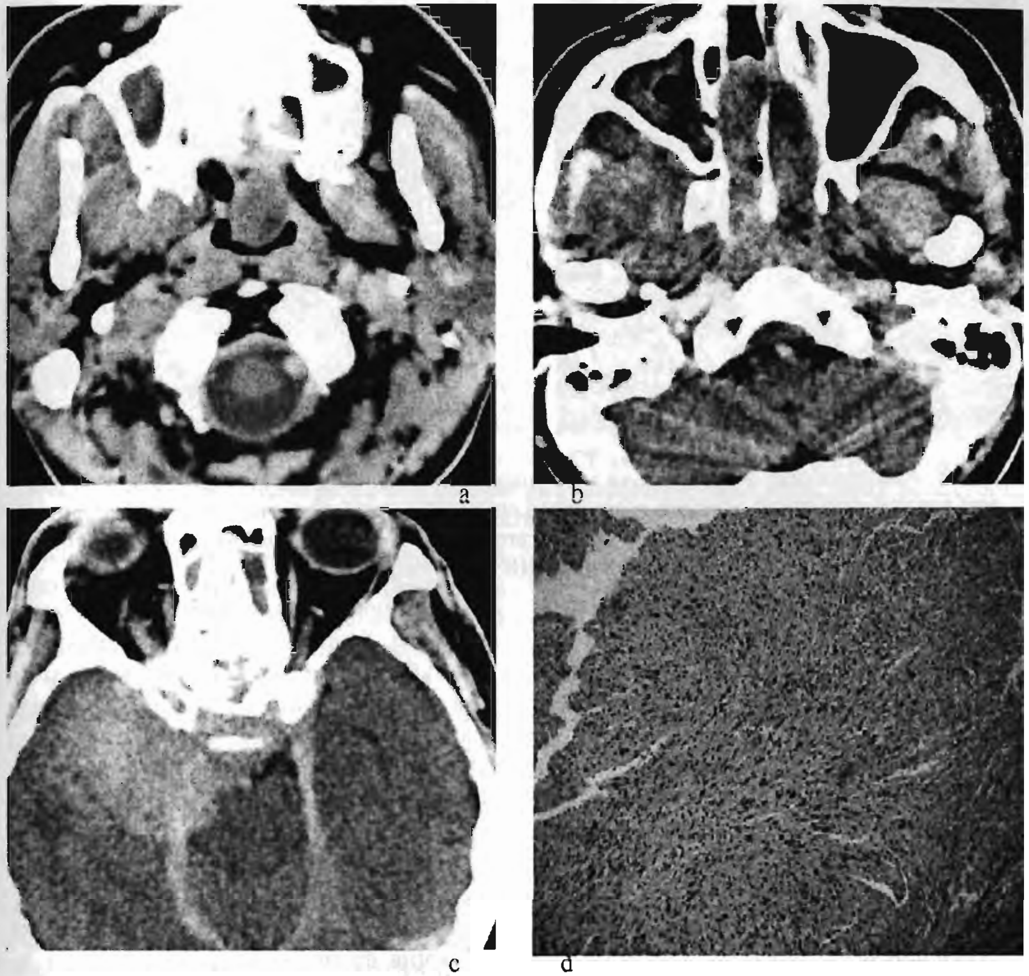


Fig. 7. Schwanom cu celule atipice: a, b, c) CT axial în fereastră de părţi moi post contrast, d) Coloraţia HE (x220 HE)

Examinat CT nativ şi cu contrast (fig. 7) a constatat prezenţa unei tumori izodense nativ, intens iodofile, situată în centrul regiunii muşchilor pterigoideni, anterior de spaţiul prestilian drept, determinând o mică extensie la acest nivel însoţită de deplasarea posterioară a grăsimii.

Tumora era extinsă anterior, superior, posterior în partea inferioară dreaptă a fosei cerebrale posterioare, mai precis la nivelul cisternei prepontine şi a nervului trigemen dar şi intracranian. Operată pe cale paralatero-nazală dreaptă leziunea a fost parţial rezecată şi rezulatatul examenului anatomopatologic a arătat prezenţa unui schwanom cu celule atipice.

Tumorile glandei parotide

În acest studiu am constatat o extensie în spaţiul parafaringian a două cazuri de cancer parotidian care prezentau şi o extensie în regiunea muşchilor pterigoidieni ai FIT.

Analiza imagistică a dosarelor

Primul caz era un carcinom dezvoltat pe un adenom pleomorf (fig. 8. a, b).

Cel de al doilea caz care asocia la

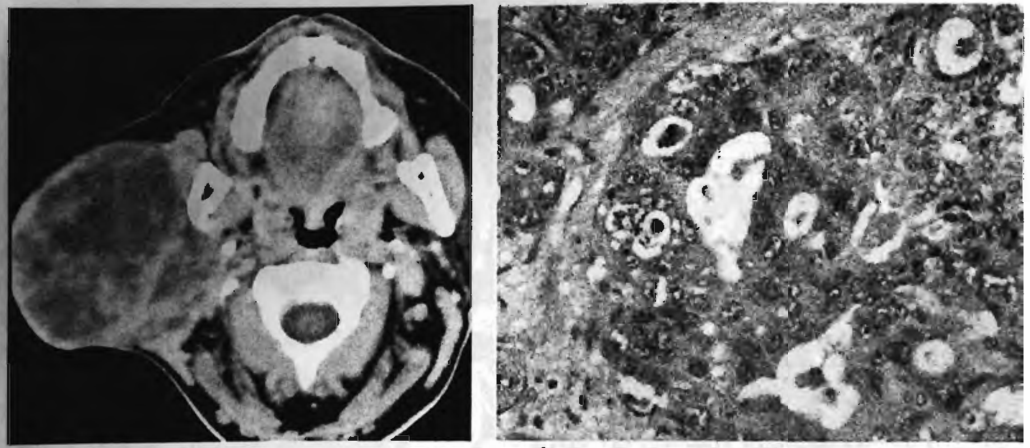


Fig. 8. Adenocarcinom dezvoltat pe un adenoma pleumorf: a) CT axial în fereastră de părţi moi post contrast evidenţiind o tumoră voluminoasă eterogenă cu zone de necroză şi priză de contrast moderată extinsă în partea posterioară a spaţiului prestilian prin butoniera retrocondiliană dreaptă ; b) Coloraţia HE (x220 HE)

extensia în FIT, în spaţiul parafaringian şi o extensie partea posterioară a spaţiului retrostilian era un carcinom scuamos parţial necrozat, infectat şi exteriorizat la piele (fig. 8. b).

Tumori de la baza craniului

Un singur caz de meningiom dezvoltat în fosa cerebrală mijlocie (fig. 9) şi recidivat 10 ani post operator prezenta extensie în spaţiul prestilian.

Analiza imagistică a dosarului

Pacientul fusese operat de două ori pentru meningiom temporal drept şi prezenta la 10 ani de la prima operaţie semne de recidivă la nivelul pterionului stâng şi în fosa cerebrală mijlocie. O mică extensie apare şi în fosa pterigopalatină, în spaţiul retro-zigomato-maxilar, în regiunea muşchilor pterigoidieni şi în spaţiul prestilian stâng.

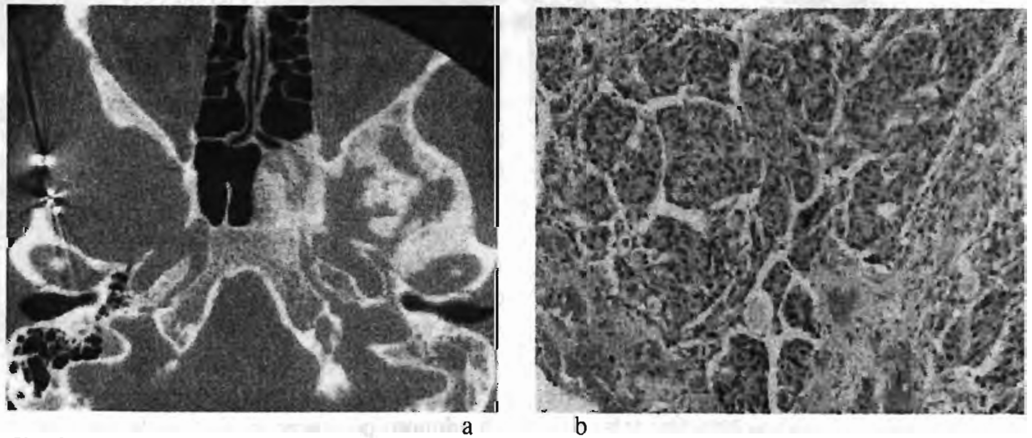


Fig. 9. Meningiom de fosa cerebrala mijlocie : a) CT axial în fereastră de os b) Coloraţia HE (x220 HE)

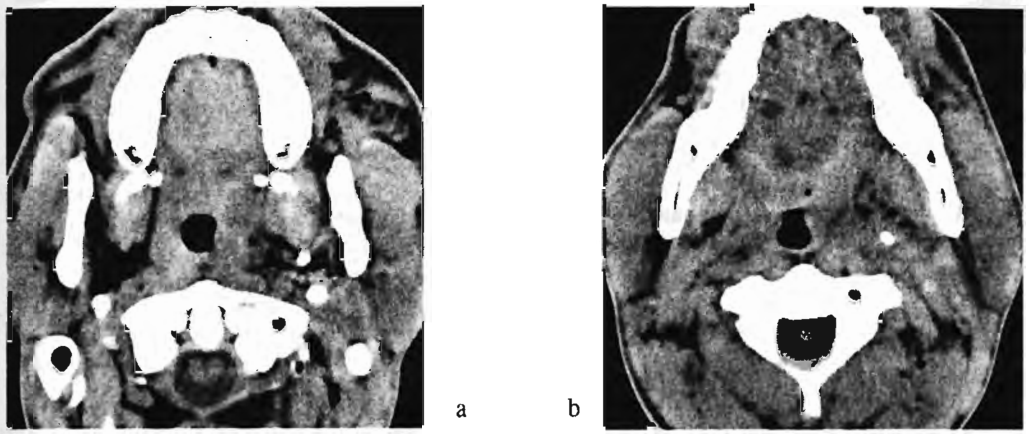


Fig. 10. Corpi metalici post accident balistic : a) şi b) CT axial în fereastră de părţi moi evidenţiind prezenţa corpilor metalici în partea inferioară stângă a spaţiului prestilian stâng, însoţit de mici bule aerice

Traumatisme cu interesarea spaţiului prestilian

Uneori traumatismele cranio-faciale pot fi însoţite de prezenţa unui corp străin de obicei metalic, cel mai frecvent o schijă, în fosa infratemporală dar şi în spaţiul prestilian, uneori însoţit de prezenţa aerului situat între muşchii fosei infratemporale şi în contact cu grăsimea spaţiului prestilian. Din cele 3 cazuri cu corpi străini doar unul avea un rest metalic în spaţiul prestilian.

Analiza imagistică a dosarelor

Examenul CT a evidenţiat multiple schije metalice, care determină mai multe sau mai putine artefacte, vizibile pe secţiunile axiale analizate în fereastră de părţi moi. Exemplificam cu un caz in care corpii metalici se localizează postero-intern de regiunea muşchilor pterigoidieni ai fosei infratemporale stângi şi în spaţiul prestilian stâng, fiind insoţiţi şi de multiple bule aerice (fig. 10. a, b).

CONCLUZII

Cazurile analizate clinico-imagistic şi anatomopatologic în studiul nostru au permis evaluarea corectă a sediului şi al extensiei leziunii care intereseaza spaţiul parafaringian, permiţând cu o singura excepţie stagilirea corectă a diagnosticului imagistic, confirmat apoi prin rezultatul anatomopatologic.

Numărul mare de leziuni care se extind în spaţiul parafaringian, necesită un examen CT spiral care sa evalueze precis extensia leziunilor, eventualele metastaze, prezenţa recidivelor şi să orienteze către un diagnostic imagistic care va putea fi confirmat anatomopatologic. Abordarea multidisciplinară a acestor leziuni este un deziderat care permite stabilirea un management terapeutic adecvat

BIBLIOGRAFIE

1. Rouvière H, Delmas A. *Anatomie humaine descriptive, topographique et fonctionelle.* Tome 1 – *Tęte et cou.* 15-e édition. Paris: Masson, 2002, 576-594.
2. Sinelnikov RD. *Atlas of Human Anatomy.* vol. II, Moscow: Mir Publishers, 1989, 38-48.
3. Berkovitz BKB. Pharynx. In: Standring S editor. *Gray's Anatomy.* 39th ed. Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone, 2005, 613-632.
4. Lang J. *Skull Base and Related Structures Atlas of Clinical Anatomy.* 2nd ed., Stuttgart: Schattauer, 2001, 308-317.
5. Marsot Dupuch K *Savoire faire en imagerie ORL et cervico-faciale.* Paris: Ed Saurams Medical, 2005.
6. Harnsberger HR. *Diagnostic Imaging Head and Neck.* New York: Ed. Amirsys, 2004.
7. Larheim TA, Westesson PL. *Maxillofacial Imaging.* London: Springer, 2006.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

SINDROMUL METABOLIC ŞI CANCERUL MAMAR LA VÂRSTA MENOPAUZEI

Cynthia Petrovanu[1], Adorata Elena Coman[1], G.C. Murariu[2], Rodica Petrovanu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina Medicină de Familie
2 Centrul de Medicină de Familie Iaşi

METABOLIC SYNDROME AND BREAST CANCER RISK IN POST-MENOPAUSAL WOMEN (Abstract) : Lipid metabolism disorders - breast cancer risk association in postmenopausal women was searched in many studies ; the HDL-cholesterol value triggered most of controversies. Some authors plead for increased breast cancer risk in overweight/obese postmenopausal women if HDL is higher while others plead for higher risk if HDL is lower then in general population. **Material and method** : We studied a 110 subjects female population aged between 41 and 69, and determined height, weight, body mass index (BMI), abdominal perimeter (AP), lipid parameters (total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides). All women performed mammography and breast echography. Imagery divided the subjects in three groups : 30 breast cancer patients (first diagnosis) - group 1, 50 breast dysplasia women -group 2, and normal breast patients - group 3. **Results** : HDL-cholesterol proved significantly higher in group 2 compared to group 3 (control group), by the third and the fourth quartile ; the same when it came to overweight/ obese post-menopausal women. Nevertheless, more lipid disorders clustered in group 1 obese/overweight postmenopausal women. **Conclusions** : High HDL in breast dysplasia women is reported in international studies too. High menopause prevalence in group 3, implying abdominal obesity and lipid disorders may explain the small difference between group 1 (breast cancer patients) and group 3 (control group). High clustering in group 1 pleads for increased breast cancer risk in metabolic syndrome postmenopausal women. Comparing HDL values and the clustering phenomenon in group 1 to the other two groups considered as a control population (as done in international published studies), we can conclude that low HDL - abdominal obesity association increases breast cancer risk after the menopausal age. **Key words** : BREAST CANCER, HDL-CHOLESTEROL, MENOPAUSE

După cum se ştie, gravitatea obezităţii constă în comorbidităţile, în fapt complicaţiile sale, sistematizate în sindromul metabolic.

Din ce în ce mai mult se discută despre complicaţiile oncologice ale obezităţii abdominale, explicate în unele studii (1,2) prin hiperinsulinism şi prin creşterea IGF-1. Cercetări mai vechi (3,4) şi mai noi (5) se concentrează asupra unui biomarker controversat al riscului dezvoltării cancerului mamar, anume fracţia HDL a colesterolului.

Astfel, încă din 1983, Gospodarowicz et al. (Cancer Research Institute and the Departments of Medicine and Ophtalmology, University of California Medical Center, San Francisco, California, USA) au studiat *in vitro* controlul proliferării celulare la mamifere de către factorii de creştere, lamina bazală şi lipoproteine. S-a constatat că în majoritatea cazurilor, simpla prezenţă a HDL-colesterolului în cultură este suficientă pentru proliferarea activă a celulelor tumorale (3).

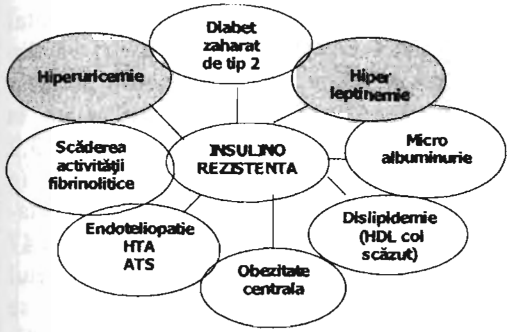


Fig. 1. Componentele sindromului metabolic (conform NCEP - ATP III)

De asemenea, studiul lui Boyd şi McGuire, publicat în 1990 în Journal of National Cancer Institute (4), a constatat valori crescute ale HDL-colesterolului la pacientele de vârstă premenopauzală cu displazie mamară diagnosticată mamografic.

Mult mai recent, în 2004 (5) s-a publicat un studiu de cohortă structurat în două screeninguri populaţionale între anii 1977-1983, respectiv 1985 - 1987. Studiul s-a efectuat în Norvegia, sub coordonarea unui colectiv de la Facultatea de Medicină a Universităţii din Tromsø - Institutul de Medicină Comunitară, Secţia de Epidemiologie şi Statistică Medicală. Supoziţia că HDL-colesterolul, ca parte integrantă şi marcantă a sindromului metabolic, ar putea fi un factor de risc semnificativ de apariţie a cancerului mamar la femeile supraponderale sau obeze, a declanşat un larg studiu prospectiv care a inclus 38 823 femei (cu vârste între 17 şi 54 ani la includere) urmărite timp de 21 ani. S-a dovedit că într-un interval de urmărire având mediana de 17,2 ani, s-au identificat 708 cazuri de cancer de sân invaziv. În analiză multivariabilă, riscul de neoplazie mamară postmeno-pauzală a fost invers proporţional cu cvartila valorii HDL ($P = 0{,}02$). Altfel spus, HDL-colesterolul scăzut, ca parte a sindromului metabolic, se asociază cu creşterea riscului de cancer mamar la vârsta postmenopauzală.

SCOPUL STUDIULUI

Pornind de la premiza că obezitatea abdominală este markerul insulinorezistenţei şi, deci, al sindromului metabolic, ne-am propus un studiu comparativ al tulburărilor metabolismului lipidic la pacientele din lotul studiat, urmărindu-se în paralel valoarea colesterolului total şi mai ales a HDL-colesterolului pentru a aprecia variaţia şi implicit importanţa acestui parametru ca factor predictiv pentru riscul de cancer mamar.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul a cuprins un eşantion de 700 subiecţi de sex feminin din populaţia judeţului Iaşi (mediu urban şi rural), constituit prin selecţia randomizată a pacientelor care s-au adresat medicului de familie, cabinetului de radiologie pentru explorări imagistice (mamografie, echografie mamară) şi clinicilor de chirurgie sau oncologie pentru tratament de specialitate într-un anumit interval de timp (2005 - 2007). Dintre acestea, s-a selectat un subgrup de 110 cazuri de vârstă perimenopauzală, statistic semnificativ, la care s-a efectuat anamneză personală şi familială, s-au cules date antropometrice (talie, greutate, IMC, perimetru abdominal), date imagistice (mamografie, echografie mamară), completate cu date legate de dietă şi de stilul de viaţă. Acestea au fost consemnate în fişe tip întocmite la nivel de cabinet teritorial şi în chestionare completate de paciente. Cele 110 paciente au fost împărţite în 3 loturi : lotul I - 30 paciente cu vârste între 43 şi 64 ani, cu cancer mamar recent diagnosticat ; lotul II - 50 paciente cu vârste între 41 şi 62 ani, cu displazii mamare constatate mamografic şi echografic ; lotul III - lot martor, 30 paciente cu vârste între 42 şi 65 ani, fără modificări pe mamografie sau pe echografia mamară. Subiecţii luaţi în studiu au întrunit următoarele criterii : vârstă peri-menopauzală (40 - 65 ani), care nu au făcut uz de contraceptive orale sau de hormonoterapie de substituţie, fără antecedente eredo-colaterale de cancer mamar, fără sarcină sau alăptare în ultimele 6 luni, nefumătoare, neconsumatoare de alcool. Mamografia şi echografia s-au efectuat în serviciul de radiologie din Ambulatorul Spitalului „Sf. Spiridon", parenchimul glandular fiind examinat în incidenţă cranio-caudală şi medio-laterală oblică (mamografic), respectiv pe cadrane (echografic). Tuturor participantelor la studiu li s-a determinat, pe lângă parametrii antropometrici (talie, greutate, perimetru abdominal, pe baza cărora s-au calculat IMC, respectiv IAF), lipidograma completă, cuprinzând colesterolul total (exprimat în mg/dl), fracţiile de colesterol - HDL-colesterol şi LDL-colesterol (exprimate în mg%) - şi trigliceridele serice (mg%). Măsurarea colesterolului plasmatic, a HDL-colesterolului şi a trigliceri-delor s-a realizat prin metode enzimatice colorimetrice (PAP), utilizând kituri DIAGON. Determinările s-au făcut a jeun, după un post de minimum 8 ore, pacientelor explicându-li-se în prealabil necesitatea şi importanţa efectuării investigaţiilor, care au fost acceptate de toate pacientele .

REZULTATE

Observăm că din punctul de vedere al valorilor colesterolului total, lotul studiat este destul de omogen (tab. I). Notăm mai cu seamă numărul mare de paciente tinere (decada 41-50 ani) care au valori ale colesterolului de peste 180 mg%. În ansamblu, se remarcă o prevalenţă crescândă a hipercolesterolemiei între 41-50 ani, cu un vârf în decada următoare (51-55 ani), după care nivelul scade semnificativ.

Analizând valoarea colesterolului total comparativ pe loturi, s-a constatat că din punctul de vedere al valorii medii a colesterolului total, aceasta este mai mare la lotul I - 233,13 mg% - faţă de lotul II (213,2 mg%) şi de lotul III (223,83 mg%), iar în ce priveşte mediana valorii, lotul I se detaşează mai mult faţă de celelalte două (247 mg% - lotul I, faţă de 207,05 mg% - lotul II, respectiv 210 mg% - lotul III), fără a se nota, totuşi, diferenţe statistic semnificative, mai ales între grupul pacientelor diagnosticate cu cancer şi grupul martor ($p<0.1$).

Reamintim că definitorie pentru sindromul metabolic, din punctul de vedere al metabolismului lipidic, este valoarea scăzută a HDL colesterolului, cumulată sau nu cu valori mari ale trigliceridelor şi ale LDL-colesterolului. Datele comunicate recent privind rolul predictiv al HDL-colesterolului pentru riscul dezvoltării cancerului mamar (5) au determinat dirijarea studiului lipidologic comparativ între cele trei loturi în direcţia cercetării variaţiei acestui parametru. S-a considerat limita inferioară a HDL-colesterolului normal 45 mg%.

Comparativ pe loturi şi pe intervale de vârstă se constată o repartiţie cvasiuniformă a valorilor HDL-colesterolului pe grupe de vârstă la toate cele trei loturi. Se notează valori medii mai mici în lotul III (martor), dar, totodată, remarcăm valori extreme maxime mai mari în loturile de studiu (lotul I - paciente cu cancer mamar şi respectiv lotul II - displazii mamare) (tab. II).

Un factor consacrat, întotdeauna luat în calcul pentru aprecierea riscului de cancer mamar este vârsta menopauzei. După modelul dat în literatură (5), am urmărit HDL-colesterolul la pacientele aflate la menopauză din toate cele trei loturi, comparând quartilele corespunzătoare (tab. III).

TABELUL I

Distribuţia valorilor colesterolului total pe grupe de vârstă

Vârstă	**41- 45 ani**	**46 – 50 ani**	**51 – 55 ani**	**56 – 60 ani**	**61- 65 ani**	**>65 ani**
Col ≥ 180	13	18	21	15	19	2
Col < 180	6	7	7	2	0	0

TABELUL II

Distribuţia valorilor HDL-colesterolului pe loturi şi pe grupe de vârstă

Decada	**Valoare**	**Lot I**	**Lot II**	**Lot III**
40 – 50 ani	MEDIE	44,81	44,61	39,62
	MAXIMĂ	80	88	64
	MINIMĂ	31	23	33
51 – 60 ani	MEDIE	47,15	48,25	41,15
	MAXIMĂ	80	70	64
	MINIMĂ	30,7	27	31
> 60 ani	MEDIE	45,58	40,5	46,11
	MAXIMĂ	73	52	65
	MINIMĂ	30	33	38

TABELUL III

HDL colesterolul la pacientele de vârstă menopauzală

	Lot I	**Lot II**	**Lot III**
Quartila I	34	37	37
Quartila II	39	42	39
Quartila III	45	53,4	40,25
Quartila IV	61	70	65

Observăm superioritatea netă a valorilor HDL pentru quartilele III şi IV la lotul II (paciente cu mastoze) faţă de celelalte două loturi.

În continuare am analizat asocierea componentelor sindromului metabolic luate în studiu (fenomenul de clustering) cu statusul menopauzal. Comparativ pe loturi se constată o aglomerare de elemente ale sindromului metabolic (IMC > 25 şi modificări lipidice complexe, *inclusiv HDL-colesterol <45 mg%)* proporţional mai mare la lotul I (paciente diagnosticate cu cancer mamar) decât la celelalte două (paciente cu mastoză şi paciente din lotul martor) (fig. 2).

DISCUŢII

Datele obţinute de noi trebuie interpretate sub rezerva numărului relativ restrâns

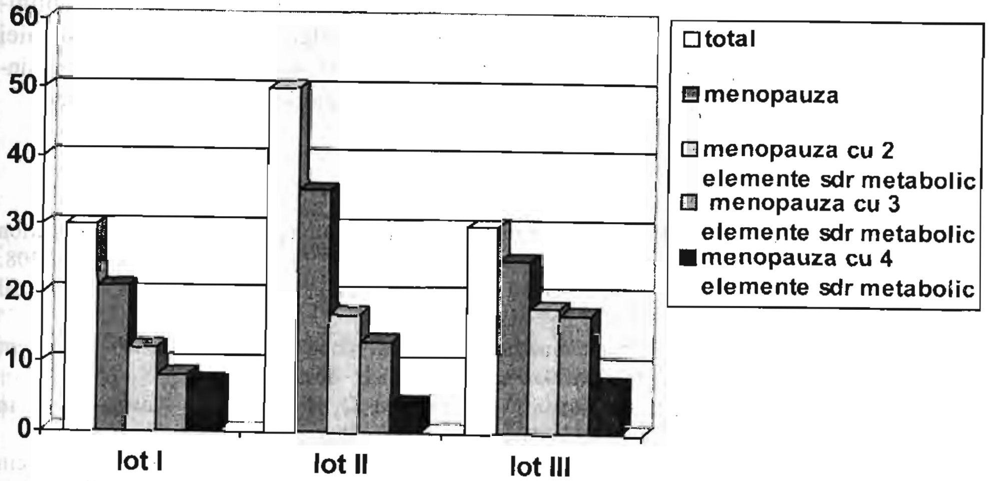


Fig. 2. Analiza comparativă pe loturi a aglomerării componentelor sdr.metabolic

de paciente, dat de adresabilitatea foarte mică la serviciile de radiologie în vederea efectuării mamografiei anuale, precum şi ţinând cont că proporţia mare a subiecţilor la menopauză din lotul martor a atras creşterea ponderii obezităţii şi a modificărilor metabolice aferente în acest grup. Chiar şi în aceste condiţii, se remarcă o diferenţă statistic semnificativă în ce priveşte colesterolul total etalat pe quartile - mai mare în lotul I faţă de celelalte două. În ce priveşte HDL-colesterolul, chiar dacă per ansamblu nu s-au evidenţiat diferenţe semnificative (ceea ce corespunde datelor din literatură), comparaţia pe quartile a evidenţiat superioritatea valorilor pentru lotul II (paciente cu mastoze), confirmând corelarea HDL-colesterolului mare cu posibila predispoziţie a acestora de a dezvolta cancer mamar (diagnosticul de mastoză s-a pus imagistic, prin examen mamografic şi echografic, nu s-a putut efectua biopsie pentru a se obiectiva tipul histologic al displaziei mamare).

În ce priveşte corelarea cu statusul menopauzal, observăm o distribuţie relativ uniformă a supraponderii/obezităţii asociată cu două sau trei modificări lipidice în subloturile cu subiecţi la vârsta menopauzei. Comparaţia pe quartile a valorilor HDL-colesterolului la persoanele de vârstă menopauzală şi supraponderale/ obeze a arătat din nou superioritatea valorilor pentru lotul II faţă de celelalte două loturi (I şi III). Totuşi, prevalenţa fenomenului de clustering (4 componente ale sindromului metabolic) la vârsta postmenopauzală în cadrul lotului I (paciente cu cancer mamar) atrage atenţia asupra riscului crescut de neoplazie la subiecţii cu acest profil metabolico-hormonal.

Menţionăm că în studiile publicate în literatură nu s-au facut paralele între pacientele cu cancer mamar la diagnostic, pacientele cu displazii mamare şi paciente martor. Pacientele cu displazii mamare care nu au dezvoltat în timp boala canceroasă au fost, implicit, incluse în lotul martor. Contribuţia noastră la cercetările în această direcţie rezidă şi în această dihotomizare a pacientelor fără cancer mamar în subiecţi fără modificări ale densităţii parenchimului mamar şi paciente cu modificări de tip displazic pe mamografie, respectiv pe echografia mamară.

CONCLUZII

Rezultatele obţinute confirmă datele din literatură conform cărora displaziile mamare se asociază cu valori ale HDL-colesterolului mai mari comparativ cu pacientele cu cancer mamar diagnosticat şi comparativ cu populaţia martor.

Prevalenţa fenomenului de clustering al factorilor metabolici şi hormonali la pacientele cu cancer mamar diagnosticat subliniază riscul neoplazic crescut al dislipidemiei (HDL-colesterol <45 mg%) în contextul sindromului metabolic la vârsta menopauzei.

BIBLIOGRAFIE

1. Sellers TA, Sprafka JM, Gapstur SM et al. Does body fat distribution promote familial aggregation of actual onset diabetes mellitus and postmenopausal breast cancer? *Epidemiol*1994; 5 (1): 102-108.
2. Stoll BA. Oestrogen/insulin-like growth factor-I receptor interaction in early breast cancer: clinical implications. *Ann Oncol* 2002; 13 (2): 191-196.
3. Gospodarowicz D. The control of mammalian cell proliferation by growth factors, basement lamina, and lipoproteins. *J Investigative Dermatol* 1983; 81: 40s-50s.
4. Boyd NF, McGuire V, Fishell E, Kuriov V, Lockwood G, Tritchler D. Plasma lipids in premenopausal women with mamographic dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 460-468.
5. Furberg AS, Veierød MB, Wilsgaard T, Bernstein L, Thune I. Serum high-density lipoprotein cholesterol, metabolic profile, and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96 (15): 1152-1160.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

EVALUAREA ANUMITOR MEDIATORI AI TURNOVER-ULUI OSOS DIN ARTRITA PSORIAZICĂ

Camelia Ciacli[1], Maria Puşchiţă[1], Doina Drugărin[2], C. Solovan[3],
Camelia Vidita Gurban[4], Coralia Cotoraci[5]
Universitatea de Vest "V. Goldiş" Arad
Facultatea de Medicină
Spitalul Clinic Judeţean Arad
1 Clinica de Medicină internă - Imunologie
5 Clinica de Hematologie
Universitatea de Medicină şi Farmacie "V. Babeş" Timişoara
Facultatea de Medicină
2 Disciplina de Imunologie
3 Disciplina de Dermatologie
4 Disciplina de Biochimie

BONE TURNOVER MARKERS EVALUATION IN PSORIATIC ARTHRITIS (Abstract): The aim of this study was to investigate the blood level of bone turnover markers: osteoprotegerin (OPG), bone alkaline phosphatase (Bone-ALP), and receptor activator of NF-kappa B ligand (RANKL) of patients with psoriatic arthritis. **Methods**: Twenty-four patients with psoriatic arthritis (CASPAR classification criteria) and twenty healthy controls were included. The OPG, Bone-ALP and RANKL levels were quantified by using ELISA method. **Results**: Peripheral blood levels of bone turnover markers were higher in psoriatic arthritis than martors and there was a strong negative correlation between OPG-RANKL and Bone-ALP- RANKL. **Conclusion**: The OPG and Bone-ALP serum level is strongly negative related to the increase in RANKL serum level in patients with psoriatic arthritis. The increase in OPG and Bone-ALP serum level induces the production of bone matrix parallel to the bone destruction mediated by RANKL. Follow up of patients with psoriatic arthritis, by use of early determination of RANKL, OPG and Bone-ALP serum levels, and also of bone metabolism markers (they have specific role in bone remodeling), allows a precise evaluation of disease activity and, in future, could be a criteria for the initiation of specific, targeting treatment. **Key words**: BONE REMODELING, BONE ŢURNOVER MARKERS, RANKL, OPG, BONE -ALP, PSORIATIC ARTHRITIS

Remodelarea osoasă este un proces ciclic, care se desfăşoară în mai multe etape cu contribuţia atât a osteoblastelor (realizează osteosinteza) cât şi a osteoclastelor (realizează resorbţia), ea reprezentând substratul celular şi morfologic al turnoverului osos şi are drept funcţie menţinerea competenţei biomecanice a scheletului. La persoanele adulte, la care s-a sistat definitiv creşterea, masa osoasă şi structura ei se menţin constante în timp, în ciuda continuei remodelări a ţesutului osos, printr-un echilibru exact între fenomenele de rezorbţie şi de neoformare de os la nivelul întregului schelet (1,2).

Procesul de remodelare a osului implică sinteza de matrice osoasă de către osteoblaste (celule osteoformatoare). *Rata for-*

mării osoase poate fi evaluată prin măsurarea activităţii enzimatice a osteoblastelor, prin dozarea componentelor matricei osoase care sunt eliberate în ser sau plasmă în cursul remodelării osoase. Implicaţiile clinice cele mai importante le au determinările serice ale Osteoprotegerinei, Bone-ALP şi Osteocalcină (3,4).

În cursul ciclului de remodelare osoasă cantitarea de os resorbită (prin acţiunea osteoclastelor) este egală cu cea formată (prin acţiunea osteoblastelor), prima etapă fiind cea de resorbţie, apoi cea de formare.

Osteoprotegerina (OPG) este un membru solubil al familiei receptorului TNF tip II, care este considerat un *marker* al *activităţii osteoblastelor*. OPG asigură ,,protecţia'' osului prin activarea osteoblastelor, *creşterea turnover-ului osos* cu *stimularea formării osoase* şi reducerea resorbţiei osoase. OPG-ul este considerat un *marker* important al *sintezei osoase* (5,6).

Bone-ALP (fosfataza alcalină osoasă) este o ectoenzimă eliberată în mediul extracelular. *Creşterea* nivelului circulant al Bone-ALP este *corelat cu rata de formare osoasă*. Fosfataza alcalină osoasă este *markerul formării osoase* cel mai comun utilizat (7).

RANKL (receptor activator of NF-kappa B ligand) este o citokină esenţială pentru formarea osteoclastelor. RANKL este membru al familiei TNF şi există într-o formă legată de membrana osteoblastului ($RANKL_{MB}$) şi o formă solubilă ($RANKL_{SB}$ sau sRANKL) (7,8,9).

Progresul recent înregistrat în studiul biologiei osteoclastului alături de faptul cunoscut că osteoclastul este o celulă efectoare importantă în prosesul de distrugere osoasă şi articulară a contribuit la înţelegerea patogenezei distrucţiei osoase din artrita psoriazică.

Prin studiile clinice efectuate s-a demonstrat că în artrita psoriazică anomaliile osoase constau în eroziuni osoase şi cartilaginoase şi distrucţii articulare progresive alături de osteoporoză locală şi chiar sistemică.

SCOPUL STUDIULUI

- Evaluarea *sintezei osoase* prin determinarea *nivelelor serice ale Osteoprotegerinei (OPG) şi ale Fosfatazei alcaline osoase (Bone-ALP),* implicate în remodelarea osoasă ca markeri ai osteosintezei.

- Evaluarea *resorbţiei osoase* prin determinarea nivelului seric al *RANKL*, implicat în remodelarea osoasă ca marker al osteoresorbţiei ;

- *Corelarea* nivelelor serice ale RANKL ca marker al rezorbţiei osoase cu nivelele serice ale OPG şi Bone-ALP ca marker al sintezei osoase în vederea realizării unor corelaţii utile în diagnosticul precoce al artritei psoriazice.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul nostru a fost realizat pe două loturi :

Lotul 1 (pacienţi cu *artrită psoriazică* diagnosticaţi pe baza criteriilor CASPAR - The Classification Criteria for Psoriatic Arthritis) este alcătuit din 24 pacienţi (n=24) dintre care 10 bărbaţi şi 14 femei cu vârstele cuprinse între 27-50 ani.

Lotul martor a fost format din 20 *subiecţi sănătoşi* (n=20) dintre care 9 femei şi 11 bărbaţi cu vârste sub 50 ani şi fără nici o afecţiune reumatismală, infecţioasă, neoplazică sau autoimună.

Cele două loturi au fost investigate la CDMT Timişoara în cadrul Laboratorului de analize medicale în perioada 2004-2007.

Criteriile de includere au fost : pacienţi cu vârste cuprinse între 27-50 ani, diagnosticaţi cu artrită psoriazică pe baza criterilor CASPAR de cel puţin 36 luni, aflaţi într-un puseu acut al bolii şi care nu urmau tratament cu antiinflamatoare non-steroidiene cu cel puţin o lună înaintea includerii în studiu. La aceşti pacienţi s-a efectuat un examen clinic general completat cu investigaţii paraclinice care să excludă prezenţa altei afecţiuni autoimune asociate, a unui proces neoplazic sau a unei infecţii sistemice.

Criteriile de excludere au fost : pacienţii cu : spondilită ankilopoetică, sindrom Reiter, alte boli ale metabolismului osos diagnosticate pe baza unei anamneze detaliate, a examenului clinic şi a investigaţilor de laborator (boala Paget, sindrom Cushing, mielom multiplu, limfomul Hodgin etc.), consumatori de alcohol, afecţiuni inflamatorii intestinale (boala Crohn etc.), sindrom de malnutriţie, deficit de vitamina D sau tratament cu impact pe metabolismul osos, pacienţii care au primit în ultimele 12 luni tratament cu glucocorticoizi sau metotrexat, alte afecţiuni care necesită tratament a la long (peste 6 luni) cu glucocorticoizi, pacienţii care au primit supliment nutritiv cu calciu sau vitamina D, activitate fizică susţinută în ultimele 12 luni, femei cu vârsta sub 40 ani aflate în perioada de menopauză precoce de diferite etiologii (chirurgicale sau medicamentoase)

Nivelul seric al OPG, Bone-ALP şi RANKL s-a determinat imunoenzimatic prin tehnica de tip sandwich ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay)

Analiza statistică a datelor

În acest studiu reprezentările grafice şi statistice au fost realizate cu ajutorul aplicaţiei Microsoft Office Excel 2007 folosind : elementele statisticii descriptive : media aritmetică±deviaţia standard (media± ds) ; elementele statisticii inferenţiale : testul t' Student şi testul Pearson.

Testul t' Student a fost folosit pentru compararea datelor din cele 2 loturi faţă de lotul martor. S-au calculat valorile coeficienţilor : p_1 (între lotul 1 şi lotul martor) $p<0.05$ are o valoare statistic semnificativă.

Testul Pearson a fost folosit pentru compararea datelor din cadrul aceluiaşi lot analizat. S-au calculat *coeficienţii de corelaţie* : r_1(lotul 1) ; $r>0.5$ - corelaţie respectabilă (pozitivă sau negativă).

REZULTATE

Nivelele serice ale OPG au fost determinate prin metoda imunoenzimatică ELISA.

La lotul 1 concentraţia serică a OPG avea valori cuprinse între 33,18 şi 48,42 pg/mL (media de 38.05±4,89 pg/mL ; $p_1<0.003$-ES, intens statistic semnificativ comparativ cu lotul martor).

La lotul martor concentraţia serică a OPG avea valori cuprinse între 28,65 şi 33,18 pg/mL (media de 31.60±1,39 pg/mL) (tab. I, fig. 1).

Analizând rezultatele obţinute se observă o creştere a nivelelor serice ale OPG la lotul 1 de 120,41%, a mediei de 38.05± 4,89 pg/mL faţă de lotul martor ca urmare a activării osteosintezei.

Nivelele serice ale fosfatazei alcaline osoase (Bone-ALP) sunt determinate prin metoda ELISA.

La lotul 1 nivelele serice ale Bone-ALP au avut limitele cuprinse între 10,57 şi 15,81 µg/mL (media de 13,19±1,42 µg/mL ; $p_{1A}<0.003$, ES - extrem semnificativ statistic comparativ cu lotul martor).

TABELUL I

Valorile serice ale OPG la lotul cu artrită psoriazică comparativ cu lotul martor

Caracteristica (media ± DS)	Lot 1 (n=24)	Lot martor (n=20)
OPG seric (pg/ml)	38,05±4,89 $p_1<0{,}002$	31,60±1,39

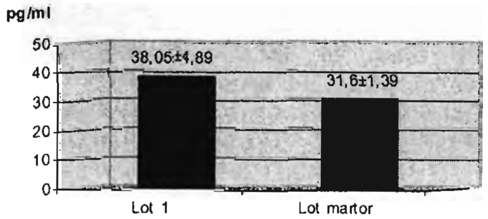


Fig. 1. Compararea nivelelor serice ale OPG la loturile analizate (nivelele serice ale OPG crescute : $p_1<0{,}002$ - ES la lotul 1, ES - intens statistic semnificativ faţă de lotul martor)

TABELUL II

Nivelele serice ale Bone-ALP la loturile analizate

Caracteristica (media ± DS)	Lot 1 (n=24)	Lot martor (n=20)
Bone-ALP (μg/ml)	13,19±1,42 p_{1A}< 0.003	8,68±0,44

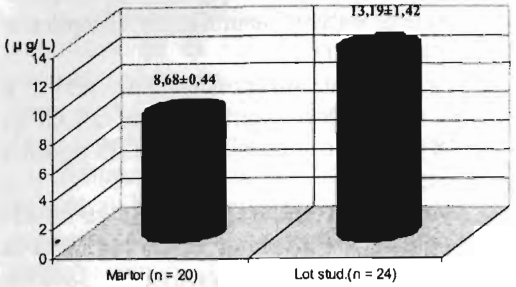


Fig. 2. Nivelele serice ale Bone-ALP la loturile analizate (nivelele serice ale Bone-ALP, media ± DS, μg/ml, la lotul 1 crescute faţă de lotul martor, p_{1A} < 0,003, ES - extrem semnificativ statistic)

TABELUL III

Valorile serice ale RANKL la lotul cu artrită psoriazică comparativ cu lotul martor

Caracteristica (media ± DS)	Lot 1 (n=24)	Lot martor (n=20)
RANKL seric (pg/ml)	51,98±10,74 p_{1B}<0,003	32.46±3,03

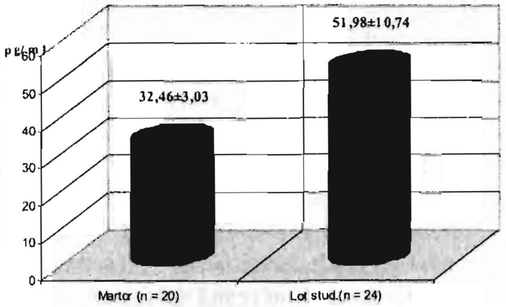


Fig. 3. Compararea nivelelor serice ale RANKL la loturile analizate (nivelele serice ale RANKL crescute : p_{1B} < 0.003- ES la lotul 1, ES - intens statistic semnificativ faţă de lotul martor)

TABELUL IV

Comparaţie între nivelul seric al OPG şi nivelul seric al RANKL la lotul cu artrită psoriazică

Caracteristica (media ± DS)	OPG seric (pg/ml)	RANKL seric (pg/ml)
Lot 1 (n=24)	38.05±4,89 p_1<0,002 r_1=0.65	51,98±10,74 p_{1B}<0,003

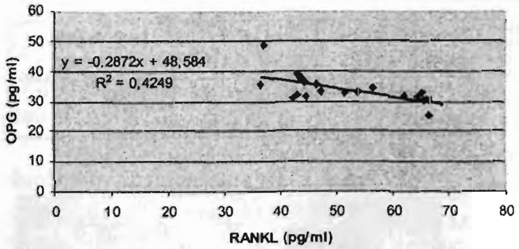


Fig. 4. Corelaţia dintre nivelul seric al OPG şi nivelul seric al RANKL la pacienţii cu artrită psoriazică (nivelul seric al OPG în corelaţie puternic negativă, r_1 = 0,65, R_2^2 = 0,4249 cu nivelul seric al RANKL)

TABELUL V

Comparaţie între nivelul seric al al Bone-ALP şi nivelul seric al RANKL la lotul cu artrită psoriazică

Caracteristica (media ± DS)	Bone-ALP seric (μg/ml)	RANKL seric (pg/ml)
Lot 1 (n=24)	13,19±1,42 p_{1A}< 0.003 r_{1A}=0.73	51,98±10,74 p_{1B}<0,003

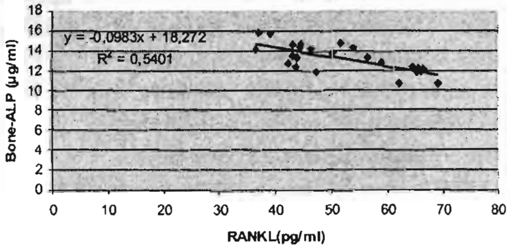


Fig. 5. Corelaţia dintre nivelul seric al Bone-ALP şi nivelul seric al RANKL la pacienţii cu artrită psoriazică (nivelul seric al OPG în corelaţie puternic negativă, r_{1A} = 0,73, R_2^2= 0,5401 cu nivelul seric al RANKL)

La lotul martor nivelele serice ale Bone-ALP au avut limitele cuprinse între 8,19 şi 9,56 pg/ml (media de 8,68±0,44 pg/ml) (tab. II).

Analizând rezultatele obţinute se poate observa o creştere de 151,95% faţă de martor (p_{1A} < 0.003, ES - extrem semnificativ statistic) a nivelului seric de Bone-ALP la lotul 1 (n=24) (fig. 2).

Nivelele serice ale RANKL sunt determinate prin metoda ELISA.

La lotul 1 concentraţia serică a RANKL avea valori cuprinse între 36,35 şi 68,99 pg/ml (media de 51,98±10,74 pg/ml ; p_{1B} < 0.003 - ES, intens statistic semnificativ comparativ cu lotul martor).

La lotul martor concentraţia serică a RANKL avea valori cuprinse între 29.65 şi 37.14 pg/ml (media de 32.46±3,03 pg/ml) (tab. III, fig. 3)

Analizând rezultatele obţinute se observă o creştere a nivelelor serice ale RANKL la lotul 1 de 160,13% a mediei de 51,98± 10,74 pg/ml faţă de lotul martor ca urmare a creşterii distrucţiei osoase (tab. IV, fig. 4).

Analizând rezultatele obţinute la loturile de pacienţi cu artrită psoriazică se poate observa o corelaţie negativă puternică : r_1 = 0,65 (R_2^2 = 0,4249 la lotul 1) existentă între nivelele serice ale OPG şi creşterea nivelelor serice ale RANKL (tab. V, fig. 5).

DISCUŢII

Tendinţa de a dezvolta leziuni osoase în artrita psoriazică este binecunoscută şi se caracterizează prin masive pierderi ale spaţiului articular, leziuni osoase mari, eroziuni osoase descrise radiografic sub formă de „ vârf de creion în cupă" şi rezorbţia extinsă a falangei distale (10) Mineralizarea osoasă periarticulară este intensă şi este însoţită de formare de os nou în formele cu periostită şi anchiloză ale bolii. Prezenţa markerilor de rezorbţie osoasă alături de cei de formare de os nou sugerează existenţa turnover accentuat în artrita psoriazică, fapt ilustrat şi de studiul nostru.

Procesul de remodelare osoasă este un proces ciclic care include degradarea şi sinteza matricei osoase şi care este controlat riguros de către sistemul RANKL/RANK/OPG alături de alţi factori care intervin în metabolismul osos (11).

Cel mai frecvent dezechilibru în remodelarea osoasă în care predomină distrucţia osului este produs de stimularea efectului interacţiunii RANKL/RANK prin activarea excesivă a osteoclastelor şi contribuie la imunopatogenia unor boli osteopenice din care face parte şi artrita psoriazică alături de : *osteoporoza post menopauză, metastazele osoase de la cancerul de prostată sau cel de sân, bolile autoimune (diabetul zaharat tip I, scleroza sistemică), bolile inflamatorii cronice (artrita psoriazică, artrita reumatoidă, periodontita), infecţiile virale cronice (hepatita cu virus C, infecţia cu HIV)*. În aceste boli rezorbţia osoasă şi distrucţia osului se manifestă prin arii locale sau generalizate de osteoliză asociate frecvent cu impotenţă funcţională ceea ce implică costuri sociale şi economice ridicate (12,13).

CONCLUZII

Analizând rezultatele obţinute în urma studiului efectuat de noi se poate concluziona că :

- la pacienţii cu artrită psoriazică se remarcă o creştere a nivelului seric al OPG şi al Bone-ALP faţă de subiecţii sănătoşi.
- creşterea concentraţiei serice a OPG şi Bone-ALP reprezintă un marker al activării osteosintezei care are loc în procesul de remodelare osoasă din cadrul artritei psoriazice.
- în artrita psoriazică apare o creştere a nivelului seric al RANKL ca urmare a activării osteoclastelor şi în consecinţă a creşterii distrucţiei osoase.
- această creştere a concentraţiei serice a RANKL reprezintă un marker al activităţii bolii.
- creşterea concentraţiei serice a OPG şi a Bone-ALP încearcă să inducă refacerea matricei osoase compensator procesului de distrucţie osoasă mediat prin RANKL.

- nivelul seric al OPG şi al Bone-ALP se află în corelaţie puternic negativă cu nivelul seric al RANKL la pacienţii cu artrită psoriazică.
- monitorizarea pacienţilor cu artrită psoriazică prin determinarea precoce a nivelelor serice ale OPG, Bone-ALP şi RANKL, markeri ai metabolismului osos cu caracter specific în procesul de remodelare osoasă, permite o evaluare precisă a activităţii bolii şi în viitor un criteriu de iniţiere a terapiei specifice, ţintite.

BIBLIOGRAFIE

1. Roodman GD. Cell biology of the osteoclast. *Exp Hematol* 1999, 27 : 1229-1241.
2. Kazama JJ, Maruyama H, Gejyo F. Osteoclastogenesis and osteoclast activation in dialysis-related amyloid osteopathy. *Am J Kidney Dis* 2001 ; 38 (Suppl. 1) : 156-160.
3. Seidel C, Hjertner O, Abildgaard N et al. Serum osteoprotegerin levels are reduced in patients wits multiple myeloma with lytic bone disease. *Blood* 2001 ; 98 : 2269-2271.
4. Shalhoub V, Faust J, Bayle W. Osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand effects on osteoclasts formation from human peripheral blood mononuclear cell precursors. *J Cell Biochem* 1999, 72 ; 251-261.
5. Kleerekoper M. Biochemical markers of bone remodeling. *Am J Med* 1996 ; 312 : 270-277.
6. Atkins GJ, Bouralexis S, Haynes DR, Graves SE, Geary SM. Osteoprotegerin inhibits osteoclast formation and bone resorbing activity in giant cell tumors of bone. *Bone* 2001 ; 28 : 370-377.
7. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 1993 ; 8 : 549-555.
8. Cheng X, Kinosaki M, Takami M, Choi Y, Zhang H, Murali R. Disabling of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK) receptor complex by novel osteoprotegerin-like peptidomimetics restores bone loss in vivo. *J Biol Chem* 2004 ; 279 (9) : 8269-8277.
9. Nakashima T, Wada T, Penninger JM. RANKL and RANK as novel therapeutic targets for arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2003 ; 15 (3) : 280-287.
10. Torre A, Rodriguez PA, Castrillo JM, Ballina G, Riestra JL. Psoriatic artritis : a clinical, immunoogical and radiological study of 180 patients. *Br J Rheumatol* 1991 ; 30 : 245-250.
11. Kamura H, Olee T, Kuhn K, Quach J, Brinson DC, Shikhman A. The osteoprotegerin /receptor activator of nuclear factor kappaB/receptor activator of nuclear factor kappa B ligand system in cartilage. *Arthritis Rheum* 2001 ; 44 : 2768-2776.
12. Mau W, Bornmann M, Weber H et al. Prediction of permanent work disability in a follow-up study of early rheumatoid arthritis : results of a tree structured analysis using RECPAM. *Br J Rheumatol* 1996 ; 35(7) : 652-659.
13. Pugner KM, Scott DI, Holmes JW et al : The costs of psoriasis arthritis : an international long-term view. *Semin Arthritis Rheum* 2000 ; 29 (5) : 305-320.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ INTERNĂ - PEDIATRIE

ARTICOLE ORIGINALE

EFECTUL TRATAMENTULUI CU MEMANTINĂ LA PACIENŢII CU BOALA ALZHEIMER MODERAT - SEVERĂ TRATAŢI CU DONEPEZIL

Oana Creţu[1], Andreea Silvana Szalontay[2], Roxana Chiriţă[2], V. Chiriţă[3]
Spitalul Clinic de Psihiatrie "Socola" Iaşi
1. Secţia Psihiatrie VII acuţi
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
2. Disciplina de Psihiatrie şi Ştiinţele Comportamentului
Facultatea de Medicină
3. Disciplina de Psihiatrie

EFFECT OF MEMANTINE TREATMENT ON PATIENTS WITH MODERATE-TO-SEVERE ALZHEIMER'S DISEASE TREATED WITH DONEPEZIL (Abstract) : **Objective** : Investigating the behavioral and cognitive effect of memantine in moderate to severe patients with Alzheimer's disease receiving donepezil. **Material and method** : 43 patients were enrolled in this prospective, randomized, parallel group study. There were no significant imbalances between the treatment groups in demographic and baseline clinical characteristics. Cognitive and global measures were collected at baseline and at the end of weeks 4, 8, 12 and 24. Behavioral measures were collected at baseline, at the end of week 12 and at week 24. **Results** : Memantine - treated patients showed significantly less deterioration in their functionality. Of patients who exhibited agitation / aggression at baseline, those treated with memantine and donepezil showed significant reduction of symptoms compared with donepezil - treated patients. **Conclusions** : Treatment with memantine was well tolerated and reduced agitation / aggression, irritability, and appetite eating disturbances in patients who were agitated at baseline and delazed its emergence in those who were free of agitation at baseline. **Key words** : ALZHEIMER DISEASE, DONEPEZIL, MEMANTINE, BEHAVIORAL DISTURBANCES

Progresele importante din domeniul medical, îmbunătăţirea mijloacelor de prevenţie au avut şi au ca rezultat creşterea duratei de viaţă, însă în plan medical acest fenomen este marcat şi de apariţia unei patologii specifice vârstei înaintate, corelate cu declinul capacităţilor fiziologice.

Îmbătrânirea populaţiei este asociată şi cu creşterea incidenţei demenţei Alzheimer şi a altor demenţe, direct corelată cu vârsta. Demenţa se caracterizează printr-o scădere generală şi progresivă a funcţiei intelectuale în comparaţie cu nivelul intelectual premorbid al pacientului. Acest declin este frecvent asociat cu schimbări comportamentale şi dificultăţi în desfăşurarea activităţilor sociale şi profesionale.

Aproximativ 5-10% din populaţia peste 65 de ani prezintă un anumit grad de declin cognitiv considerat ca fiind anormal pentru acest grup de vârsta. Dintre aceştia, mai mult de 50% vor prezenta o demenţă cu etiologie degenerativă, dintre care cea mai frecventă este boala Alzheimer.

În ultimii 30 de ani, o serie întreagă de compuşi au fost folosiţi în tratamentul bolii Alzheimer şi al altor demenţe. Una dintre cele mai utilizate strategii farmacologice până în prezent constă în manipularea sistemului colinergic utilizând inhibitori ai acetilcolinesterazei. Interesul pentru tratamentul colinergic al demenţei Alzheimer se bazează pe observaţia pierderii neuronilor colinergici din nucleul bazal şi declinul masiv al proiecţiilor bazalo-corticale, reducerii activităţii acetilcolinesterazei corticale, corelaţiilor dintre reducerea acetilcolintransferazei şi reducerea celulară de la nivelul nucleului bazal şi densitatea plăcilor în ariile corticale precum şi corelării cu scăderea scorurilor pe scalele de evaluare a demenţei.

Chiar dacă deficitul colinergic nu este singura modificare patologică în BA, acesta reprezintă cel mai important deficit de transmisie. Donepezil este un inhibitor reversibil al acetilcolinesterazei, cu înaltă selectivitate pentru aceasta.

Glutamatul, neurotransmiţătoul excitator cu cea mai mare prevalenţă de la nivel cerebral este de asemenea important în patogeneza demenţei, acţionând la nivelul celulelor piramidale neocorticale, ale căror neuroni se pierd în patogeneza demenţei, acţionând la nivelul celulelor piramidale neurocorticale, ale căroror neuroni se pierd în mod selectiv în boala Alzheimer. Există mai mulţi receptori ai glutamatului, dar unul dintre aceştia, receptorul NMDA (N-metil-D-aspartat) este de un interes particular din cauza capacităţii sale de potenţare pe termen lung.

Memantina este un antagonist cu afinitate moderator, necompetitivă, a receptorilor NMDA, blocând activitatea patologică a receptorilor NMDA datorată nivelelor excesiv de ridicate ale glutamatului sinaptic, menţinând totodată activarea fiziologică necesară formării memoriei şi procesului de învăţare.

Obiectivul studiului a constat în investigarea beneficiului tratamentului cu memantină asupra tulburărilor comportamentale şi cognitive la pacienţii cu formă moderat-severă de boală Alzheimer aflaţi sub tratament cu donepezil.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul a fost prospectiv, randomizat, pacienţii fiind distribuiţi aleator unui grup de tratament şi fiind urmăriţi şi evaluaţi timp de 24 săptămâni. În studiu au fost înrolaţi 43 pacienţi din care 21 au continuat tratamentul cu donepezil (grupul A) şi 22 au fost alocaţi grupului care a primit donepezil şi tratament cu memantină (grupul B).

La pacienţii din grupul B doza de memantină a fost crescută treptat, în trepte săptămânale de câte 5 mg, de la doza iniţială de 5 mg la cea de 20 mg/zi, administrată sub forma a 2 tablete de câte 5 mg de 2 ori pe zi, la începutul săptămânii 4.

Pe tot parcursul studiului, pacienţii au continuat terapia stabilă cu donepezil.

Criterii de includere

Pacienţii incluşi în studiu au îndeplinit criteriile de diagnostic DSM IV TR pentru boala Alzheimer, au fost complianţi, cu stare de sănătate bună, de sex feminin sau masculin şi au avut vârsta de cel puţin 50 de ani, scorul pe scala Mini Mental State Examination (MMSE) a fost cuprins între 10 şi 17 puncte la includere.

Pacienţii au efectuat în ultimele 12 luni anterioare includerii, investigaţii RMN sau CT ale căror rezultate au fost concordante cu diagnosticul de boală Alzheimer şi se găseau sub tratament curent cu inhibitorul de acetilcolinesterază donepezil de cel puţin 6 luni, doza fiind stabilă (10 mg/zi) la toţi pacienţii. Pacienţii au avut un îngrijitor / persoană din familie care putea acorda informaţii legate de sănătatea acestora.

Au fost excluşi pacienţii cu demenţă vasculară, pacienţii care prezentau simptome demenţiale datorate altor afecţiuni decât boala Alzheimer, pacienţii cu tulburare depresivă severă sau cei cu un scor mai mare de 4 pe Scala de Ischemie Hachinski. Au fost excluşi pacienţii cu afecţiuni somatice severe instabile sau cu risc vital previzibil. Au fost incluse în această categorie bolile hepatice, renale, gastroduodenale, cardiovasculare, endocrine, imunologice, neurologice sau hematologice. Au fost excluşi subiecţii care se aflau sub tratament cronic cu benzodiazepine, hipnotice, anticolinergice, anxiolitice.

A fost obţinut consimţământul pacientului atunci când a fost posibil sau al persoanei din familie care asigura îngrijirea acestuia.

Studiul s-a desfăşurat pe o perioadă de 24 săptămâni cu 4 vizite, prima vizită efectuată după perioada de screening, în care s-a efectuat examenul fizic general, ECG, istoricul psihiatric şi neurologic, analize de laborator (hemoleucograma, electroliţi, VSH, analiza urinei) şi examenele psihologice. Examinarea psihologică a constat în aplicarea scalelor MMSE, ADAS-cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale), NPI (Neuropsyhiatric Inventory) şi CMAI (Cohen-Mansfield Agitation Inventory).

După realizarea titrării memantinei la pacienţii din grupul B a urmat vizita 2 la care s-au aplicat aceleaşi scale. Vizitele 3 şi 4 au prezentat acelaşi protocol investigaţional.

REZULTATE

După cum am menţionat, la studiu au participat 43 pacienţi - din care 38 % la grupul A şi 37 % la grupul B erau bărbaţi. Vârsta medie pentru ambele grupuri de tratament a fost de 72,5 ani. Nu au existat diferenţe semnificative între grupurile terapeutice în ceea ce priveşte caracteristicile socio-demografice şi distribuţia pe grupe de vârstă a pacienţilor.

La evaluarea iniţială, scorurile medii MMSE au fost 15,2 la grupul A şi respectiv 14,9 la grupul B. Scorul mediu ADAS-cog la baseline a fost pentru grupul A de 31,35 şi pentru grupul B de 36,11 (tab. I).

Pe parcursul desfăşurării studiului s-a urmărit evoluţia comparativă a scorurilor MMSE şi ADAS – cog la cele două loturi de pacienţi. S-a remarcat evoluţia favorabilă a simptomatologiei cognitive la lotul tratat cu memantină şi donepezil (tab. II şi III).

Scorurile medii NPI au fost de 15,8

TABELUL I

Scoruri medii MMSE şi ADAS-cog la baseline (V1)

Scoruri medii baseline	LOT A	LOT B
MMSE	15,2	4,9
ADAS-cog	31,35	36,11

TABELUL II

Evoluţia comparativă a scorurilor medii MMSE la cele două loturi de pacienţi

Scor mediu MMSE	LOT A (Donezepil)	LOT B (Donezepil+Memantina)
V 1	15,2	14,9
V 2	15,1	14,9
V3	15,0	15,4
V4	15,0	16,3

TABELUL III

Evoluţia comparativă a scorurilor medii ADAS-cog la cele două loturi de pacienţi

Scor mediu ADAS-cog	LOT A (Donezepil)	LOT B (Donezepil+Memantina)
V 1	31,35	36,11
V 2	31,30	36,07
V3	30,45	34,53
V4	31,25	33,98

TABELUL IV

Scoruri medii NPI și CMAI la baseline (V 1)

Scoruri medii baseline	LOT A	LOT B
NPI	15,8	16,4
CMAI	32,45	34,55

TABELUL V

Evoluția comparativă a scorurilor medii NPI la cele două loturi de pacienți

Scor mediu NPI	LOT A (Donezepil)	LOT B (Donezepil+Memantina)
V 1	15,8	16,4
V 2	15,6	16,02
V3	16,83	13,85
V4	17,25	13,43

TABELUL VI

Evoluția comparativă a scorurilor medii CMAI la cele două loturi de pacienți

Scor mediu CMAI	LOT A (Donezepil)	LOT B (Donezepil+Memantina)
V 1	32,45 ± 11,92	34,55 ± 9,59
V 2	33,05 ± 11,48	31,55 ± 9,12
V3	33,56 ± 11,72	30,73 ± 8,57
V4	33,98 ± 13,79	29,34 ± 9,87

pentru grupul A și 16,4 pentru grupul B, ceea ce indică faptul că majoritatea pacienților aflați în studiu au prezentat nivele scăzute spre moderate ale simptomatologiei discomportamentale la intrarea în studiu.

La vizita 1, scorul mediu CMAI pentru grupul A a fost de 32,45 iar pentru grupul B de 34,55 (tab. IV).

Cele mai mari subscoruri pe scala NPI au fost inregistrate la agitație, anxietate, tulburări comportamentale nocturne, apatie, iritabilitate și modificări ale apetitului / alimentației. Analiza domeniilor NPI în săptămâna 12 a evidențiat diferențe în favoarea grupului B în ceea ce privește manifestările de agitație, iritabilitate și modificările apetitului / alimentației. În săptămâna 24 la aceiași itemi au fost înregistrate diferențe semnificative în favoarea grupului cu memantină (tab. V și VI).

DISCUȚII

Dintre pacienții fără tulburări comportamentale pe domenii specifice la includerea în studiu, mai puțini subiecți au manifestat apariția delirului și a agitației în săptămâna 12 la grupul B. În săptămâna 24, mai puțini pacienți din grupul B (tratați și cu memantină) au manifestat apariția agitației și a tulburărilor comportamentului nocturn. Dintre pacienții care au prezentat agitație / agresivitate la baseline, cei tratați și cu memantină au prezentat o reducere semnificativă a simptomatologiei comparativ cu grupul A. La o analiză comparativă a celor două loturi, un procent mai mare de pacienți tratați cu memantină a prezentat un răspuns comportamental pozitiv, atât la jumătatea studiului cât și la finalul acestuia.

CONCLUZII

Analiza comparativă a celor două grupuri sugerează că memantina are beneficii asupra tulburărilor comportamentale pe lângă impactul favorabil asupra deficitului cognitiv și funcționării cotidiene. La pacienții care inițial nu au prezentat agitație, apariția agitației / agresivitații în săptămânile 12 și 24 a fost semnificativ redusă, iar la pacienții inițial simptomatici, agravarea agitației a fost semnificativ redusă în săptămânile 12 și 24.

Rezultatele studiului ne permit să afirmăm că tratamentul cu memantină are influențe pozitive asupra tulburărilor comportamentale și reduce agitația / agresivitatea, iritabilitatea și modificările apetitului la pacienții cu BA.

Toți pacienții incluși în studiu urmează tratament cu inhibitorul de acetilcolinesteraza donepezil iar studiile din literatura de specialitate au indicat că inhibitorii colinesterazei reduc tulburările comportamentale la pacienții cu boală Alzheimer.

Efectele asupra tulburărilor comportamentale prezentate anterior s-au manifestat la pacienții randomizați la tratamentul cu donepezil plus memantină și nu la cei rămași în tratament cu donepezil. Aceasta sugerează că beneficiile comportamentale constatate în studiul de față pot fi atribuite memantinei.

Studiul are limitări, este o analiză exploratorie a unui rezultat secundar, iar rezultatele trebuie confirmate prin cercetari clinice prospective. Pacienții nu au fost selectați pe baza anomaliilor comportamentale specifice iar cei mai mulți pacienți au manifestat relativ puține tulburări comportamentale inițiale, fapt reflectat de scorurile NPI relativ mici.

BIBLIOGRAFIE

1. Cummings JL. Cholinesterase inhibitors : a new class of psychotropic compounds. *Am J Psychiatry* 2000 ; 157 : 4-15.
2. Gauthier S, Feldman H, Hecker J et al. Efficacy of donepezil on behavioral symptoms in patients with moderate to severe Alzheimer disease. *Int Psychogeriatr* 2002 ; 14 : 389-404.
3. Mega MS, Masterman DM, O'Connor SM, Barclay TR, Cummings JL. The spectrum of behavioral responses to cholinesterase inhibitor therapy in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 1999 ; 56 : 1388-1393.
4. Trinh NH, Hoblyn J, Mohanthy S, Yaffe K. Efficacy of cholinesterase inhibitors in the treatment of neuropsychiatric symptoms and functional impairment in Alzheimer disease : a meta-analysis. *JAMA* 2003 ; 289 : 210-216.
5. Reisberg B. Doody R., Stoffler A., Schmitt F., Ferris S., Mobius HJ. Memantine in moderate – to – severe Alzheimer disease. *N Engl J Med* 2003 ; 348 : 1333-1341.
6. Rogawski MA., Wenk GL. The neuropharmacological basis for the use of memantine in the treatment of Alzheimer disease. *CNS Drug Rev* 2003 ; 9 : 275-308.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

CHILBLAIN LUPUS LA ADOLESCENT

Daciana Elena Brănişteanu[1], Andreea Dana Molodoi[2] Laura Stătescu[1], Zenaida Petrescu[1], Daniela Vasiluţ[1], Ecaterina Anisiei[3], D. Ferariu[4], D. Brănişteanu[5]
Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr.T. Popa” Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica Dermatologie
5 Clinica Oftalmologie
Spitalul Municipal Roman
2 Secţia Dermatologie
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă “Sf. Spiridon” Iaşi
3 Laboratorul de Imunologie
4 Laboratorul de Anatomie patologică

CHILBLAIN LUPUS OF THE TEENAGER (Abstract): Chilblain lupus or lupus pernio is a particular clinical type of cutaneous chronic lupus erythematosus, more frequently met in adults and difficult do diagnose without specific lesions at the level of the face and/or the scalp. The patient B.A., female, aged 16 is hospitalized in the Dermatological Clinic Iasi for some red-to-violaceous plaques, infiltrated, slightly scaling located around the nails and on the hands and legs finger sides. The lesions come up at the age of 13 become even more serious and painful in cold weather, getting better in the warm season when they become slightly pruriginous and are accompanied by a discrete facial erythema in “vespertilio”, completely neglected by the patient. The general status was very good during this time, without general manifestations or visceral touches. The clinical diagnosis that was initially suggested, pernio, was afterwards denied by a detailed anamnesis, by laboratory testes (positive antinuclear antibodies, positive anti-double-stranded DNA antibodies) and by the histopathological examination of the biopsy from cutaneous lesions. The introduction of the antimalarial drugs (Plaquenil® 200mg/day) associated with photoprotective creams, led to cure of cutaneous lesions. **Key words**: CHILBLAIN LUPUS, ANTIMALARIAL DRUGS, PERNIO

Lupusul eritematos este o colagenoză majoră, având la bază o dezordine autoimună complexă. Până în prezent nu s-a ajuns la un consens în ceea ce priveşte clasificarea clinică a formelor de lupus eritematos şi nici în ceea ce priveşte profilul imuno-biologic al fiecărei forme clinice în parte (1).

Lupusul eritematos cronic cutanat (LECC) este unanim acceptat şi definit drept o agresiune autoimună asupra tegumentului, viscerele fiind neafectate (2).

Chilblain lupus (lupusul „degerătură" sau lupusul pernio) este una din formele clinice ale LECC, alături de lupusul discoid, lupusul tumidus şi paniculita lupică. (1) Această formă clinică de lupus eritematos apare mai frecvent la femei şi este caracterizată prin localizarea acrală a leziunilor, la nivelul degetelor de la mâini şi picioare, regiunile plantară şi calcaneană, urechi, nas, coate, genunchi.

În ceea ce priveşte aspectul clinic al leziunilor de lupus pernio, acestea sunt similare cu cele din eritemul pernio, fiind reprezentate de macule roşii sau violacee, papule sau/şi noduli, grupate în plăci pe zonele anatomice mai sus amintite. Leziunile pot fi uneori ulcerate, pruriginoase sau dureroase. Pot apărea şi fisuri deasupra articulaţiilor interfalangiene şi pe partea dorsală a degetelor de la picioare. În evoluţie, aspectul clinic virează către plăci atrofice cicatriciale şi telangiectazii (1,2,3).

PREZENTAREA CAZULUI

Prezentăm cazul unei paciente B.A., în vârstă de 16 ani, care se internează pentru prezenţa unor plăci edematoase, eritemato-violacee, infiltrate, uşor scuamoase, unele centrate de vezicule / bule, situate la nivel periunghial şi pe feţele laterale ale degetelor de la mâini şi picioare. Leziunile se accentuau şi deveneau intens dureroase la frig.

Antecedentele heredocolaterale nu sugerează nici un element semnificativ în legătură cu boala actuală a pacientei. Prima menstruaţie a fost la vârsta de 13 ani iar ca antecedente personale patologice amintim febrele eruptive ale copilăriei şi o hepatită virală cu virus A. Pacienta este elevă, fumează aproximativ 10 ţigări/zi şi nu consumă băuturi alcoolice.

În ceea ce priveşte istoricul bolii, aceasta a debutat la vârsta de 13 ani, în sezonul rece, prin apariţia unor plăci eritemato-violacee, uşor infiltrate situate periunghial şi pe marginile laterale ale degetelor de la mâini şi picioare. În evoluţie leziunile devin edematoase, infiltrate moderat, uşor scuamoase, unele centrate de vezicule / bule. Leziunile evoluează continuu spre extensie, se accentuează la temperaturi scăzute şi se atenuează în sezonul cald. Subiectiv pacienta declară durere locală la frig şi prurit la căldură. Tratamentele efectuate anterior, ca pentru acrocianoză sau degerături au avut rezultate îndoielnice.

Pacienta se adresează Clinicii Dermatologice din Iaşi pentru evaluarea leziunilor cutanate, investigaţii suplimentare şi tratament de specialitate.

Starea generală era bună, fără adinamie, inapetenţă, scădere ponderală, mialgii, artralgii sau micropoliadenopatii generalizate. Tot în cadrul examenului clinic general menţionăm absenţa acrocianozei şi/sau a fenomenului Raynaud.

La examenul local, la nivel periunghial, pe feţele laterale şi pe pulpa degetelor de la mâini şi picioare se observă plăci edematoase, eritemato-violacee, uşor infiltrate, scuamoase, unele centrate de vezicule/bule (eritem multiform - like). (fig. 1, 2) Totodată, la nivelul feţei era prezent un discret

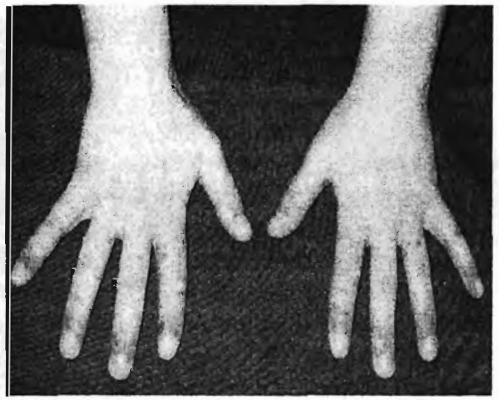


Fig. 1. Chilblain lupus. Leziuni periunghiale şi pe feţele dorsală şi laterale ale degetelor de la mâini

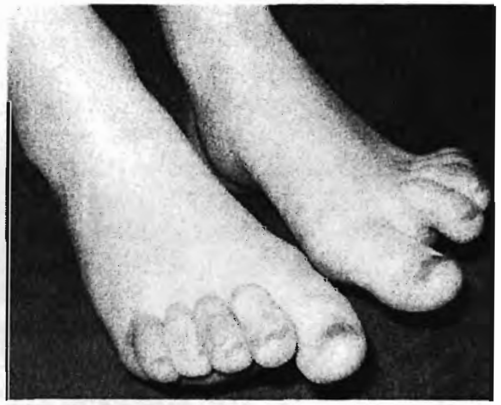


Fig. 2. Chilblain lupus. Leziuni periunghiale şi pe feţele dorsală şi laterale ale degetelor de la picioare

eritem „in vespertilio" care s-a accentuat în cursul spitalizării, în urma unei expuneri fortuite la soare. Acest eritem caracteristic al feţei, fotoindus şi fotosensibil nu a fost nici remarcat şi nici declarat de către pacientă.

Investigaţiile paraclinice au pledat, ca şi tabloul clinic în favoarea unei forme cronice cutanate de lupus eritematos, absenţa crioglobulinelor infirmând eritemul pernio: VSH = 31 mm/1 h şi 76 mm/2 h; Hb = 11,6 g/dL, Ht = 36,2%, GR = 4 mil/mmc; Factor reumatoid (FR)= 1/4 pozitiv = 32 U/mL; IgA, G, M = în limite normale; Crioglobuline = absente; CIC = 77 UI; C_3 = 102 mg/dL; C_4 = 37 mg/dL; Celule lupice = absente; Ac. anti ADNd.c. = pozitiv (63 UI/mL), Ac. antinucleari = negativi; Ac. antifosfolipidici = negativi; Ac. anti SSA şi Ac. anti SSB = negativi; Ac. cANCA = negativi; Ac. antimitocondriali = pozitivi (15,6 UI/mL).

S-a practicat biopsie cutanată din leziunile periunghiale. Examenul anatomopatologic confirmă diagnosticul de chilblain lupus: epidermul era papilomatos, cu dopuri cornoase, în dermul papilar era prezentă o inflamaţie cronică (fig. 3). Membrana bazală era îngroşată, cu balonizarea celulelor din stratul bazal (fig. 4). Infiltratul inflamator era grupat şi perivascular (fig. 5).

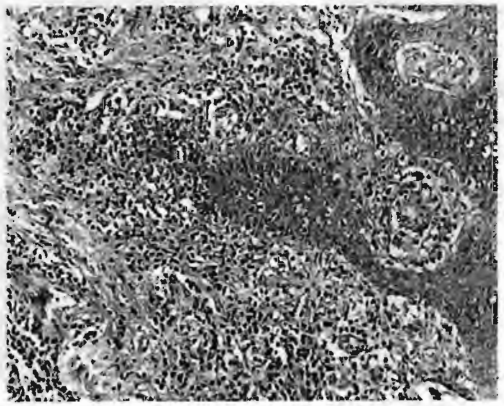


Fig. 4. Epiderm papilomatos, focar de balonizare a celulelor stratului bazal, membrană bazală îngroşată, inflamaţie cronică

Examenul oftalmologic a evidenţiat o acuitate vizuală normală iar la examenul clinic la lampa cu fantă (inclusiv biomicroscopia fundului de ochi) structurile oculare prezentau un aspect normal. În aceste condiţii s-a considerat oportună iniţierea terapiei cu Plaquenil® dar, cu recomandarea ca pacienta să fie reevaluată la fiecare 3 luni.

Tratamentul de primă intenţie la pacienta noastră a fost cu hidroxiclorochină în doză de 6,5 mg/kgc/zi (Plaquenil®200 mg, 1cp/zi), asociată cu fotoprotecţie medicamentoasă şi prin vestimentaţie. Concomitent s-au administrat vasodilatatoare periferice, flebotropice şi dermatocorticoizi potenţi nefluoruraţi.

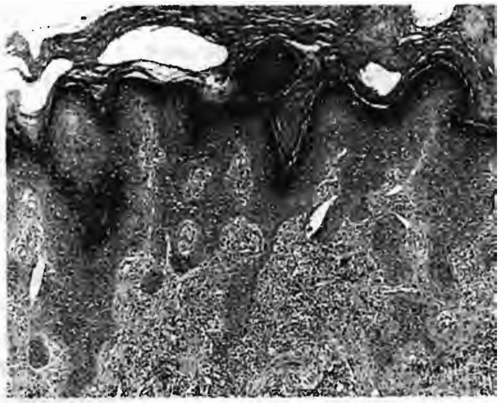


Fig. 3. Epiderm papilomatos, dopuri cornoase, inflamaţie cronică în dermul papilar, membrană bazală îngroşată. HE x10

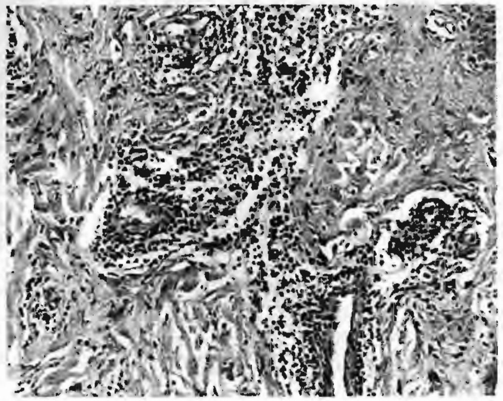


Fig. 5. Inflamţie cronică perivasculară. HE x10

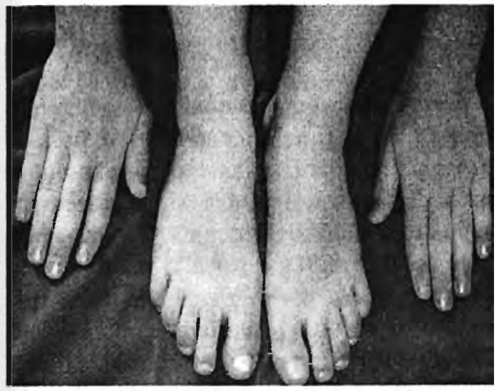


Fig. 1. Chilblain lupus în curs de tratament

Deşi lupusul pernio este considerat o formă clinică de LECC rebelă la tratament, introducerea antimalaricului la pacienta noastră a condus la remisiunea leziunilor în aproximativ 3 săptămâni (fig. 6), fără apariţia efectelor secundare la 7 luni de la iniţierea terapiei cu Plaquenil®, 200 mg/zi.

DISCUŢII

LECC este rar întâlnit la copil, cu o incidenţă sub 2%, vârsta de debut variind între 1 şi 15-16 ani. Cele două sexe sunt aproximativ egal afectate, unele studii subliniind o predominenţă masculină (femei/bărbaţi = 0/6) (1,2).

LECC al copilului este similar formei adultului. Evoluţia bolii poate fi spre menţinerea localizării cutanate sau, dimpotrivă, spre progresia rapidă către forma sistemică de boală (lupus eritematos sistemic - LES). Experienţa clinică a arătat că manifestările sistemice apar odată cu înaintarea în vârstă, mai frecvent la copiii diagnosticaţi cu LECC, fiind predispuse îndeosebi cazurile sărace în leziuni cutanate (1,3). Prezumţia de transformare a LECC al copilului în LES apare dacă există un istoric familial de lupus eritematos, dacă poate fi remarcată fotosensibilitatea sau dacă sunt prezente modificări biologice caracteristice (2,4).

Unii autori consideră că leziunile de tip "chilblain lupus" pot constitui un marker al evoluţiei unui LECC spre un LES. Leziunile cutanate tipice pot fi precedate sau însoţite de eritem pernio la nivelul degetelor, nasului, urechilor, care se exacerbează la frig, devenind keratozice în timp sau luând aspectul unui veritabil lupus „degerătură" (4,5).

Aspectele histologice din chilblain lupus sunt asemănătoare cu cele din lupusul cronic cutanat discoid: la nivelul epidermului se constată o hiperkeratoză marcată, ortokeratozică ce formează dopuri cornoase la nivelul orificiilor foliculare; în dermul superfical se descrie prezenţa unui infiltrat inflamator important, dispus perianexial ce poate atinge şi dermul profund atunci când sunt prezente leziuni de tip cicatricial. În chilblain lupus hiperkeratoza este mult mai importantă şi pot să apară modificări în reţeaua limfatică superficială şi profundă (6).

Au fost emise criterii de diagnostic pozitiv pentru chilblain lupus(1):

- 2 criterii majore (leziuni ale extremităţilor induse de expunerile la frig sau la temperaturi mai scăzute şi leziuni specifice, evocatoare de lupus eritematos la examenul histopatologic în imunofluorescenţă directă);
- 3 criterii minore (coexistenţa cu LES sau cu leziuni de lupus discoid, răspunsul la terapia specifică pentru lupus eritematos şi absenţa crioglobulinelor, criofibrinogenului sau a aglutininelor la rece).

Factorii de risc pentru evoluţia unui LECC în LES sunt: anemia, leucopenia moderată, RPR fals pozitivă, factorul reumatoid (FR) prezent, scăderea complementului seric, creşterea gamaglobulinelor (2).

Lupusul "degerătură" este deseori asociat cu forma discoidă de LECC sau mai rar, în aproximativ 5% din cazuri, chiar cu

LES (în special forma clinică cu manifestări neuropsihiatrice). După unii autori, jumătate din pacienţii diagnosticaţi cu chilblain lupus au asociate leziuni faciale sau ale scalpului de lupus discoid, iar un procent de 15 - 20% dintre aceştia evoluează spre forma sistemică de boală. Anticorpii antinucleari sunt pozitivi şi uneori FR este crescut. În pielea lezională sunt prezente evidenţele histologice şi imunofluorescente de lupus eritematos (7).

Diagnosticul diferenţial al lupusului pernio se face în primul rând cu eritemul pernio şi cu lupusul discoid, ulterior având în vedere diagnosticele de vasculită, sarcoidoză, eritem multiform sau dermatită de contact veziculo-buloasă (1,2).

Deosebirea dintre chilblain lupus şi eritemul pernio se face pe baza persistenţei leziunilor în afara sezonului rece, a Ac. antinucleari pozitivi precum şi pe prezenţa unuia sau mai multor criterii ale American College of Rheumatology (revizuite în anul 1997) (8), criterii folosite în stabilirea diagnosticului pozitiv de LES (7).

Lupusul pernio se diferenţiază de formele distale de lupus discoid pe seama caracterului sezonier, leziunile de lupus „degerătură" agravându-se la rece. Ac. antinucleari sunt pozitivi doar în 20-30% din cazurile de lupus discoid, deci absenţa lor nu poate exclude diagnosticul de chilblain lupus (2). Ac. anti ADNd.c. şi Ac. anti-Ro/SSA sunt rar întâlniţi în lupusul discoid. În schimb, chilblain lupus se poate asocia uneori cu prezenţa Ac. anti-Ro/SSA (9).

Leziunile de lupus pernio sunt rezistente la tratament şi îmbracă un caracter sezonier, fiind precipitate de frig şi de climatul umed şi ameliorate vizibil în cursul verii (1).

Prima linie terapeutică sunt antipaludicele (clorochină sulfat, hidroxiclorochină, amodiachină). Mecanismul de acţiune al hidroxiclorochinei este încă incomplet elucidat, eficienţa terapeutică fiind asigurată de efectele antiinflamator, de fotoprotecţie şi imunomodulare ale antimalaricelor (2).

Cele mai însemnate efecte secundare ale terapiei cu antimalarice s-au dovedit a fi atingerile oculare, examenul oftalmologic fiind obligatoriu înaintea şi pe parcursul terapiei cu hidroxiclorochină. La doze mai mici de 400 mg/kg corp hidroxiclorochina este considerată astăzi mai sigură decât clorochina în ceea ce priveşte efectele adverse oculare (10). Totuşi, o examinare clinică atentă poate evidenţia în timp efectele toxice ale hidroxiclorochinei asupra diverselor structuri oculare. Cele mai frecvente sunt depozitele corneene dar mai ales retinopatia la hidroxiclorochină carcaterizată printr-o alterare progresivă a epiteliului pigmentar macular (11). Aceste modificări maculare se traduc prin instalarea unui scotom central şi a unei discromatopsii progresive. Recunoaşterea precoce a semnelor de toxicitate oculară impune oprirea medicaţiei. Numai în aceste cazuri modificările oculare au un caracter reversibil (12,13).

De asemenea, în cursul tratamentului pot să apară pigmentaţii cutanate pe zonele fotoexpuse, pigmentaţii mucoase sau unghiale, albirea părului prin efectul toxic direct asupra populaţiei melanocitare, prurit, urticarie, vasculită sau exanteme maculo-papuloase (1).

Tabagismul este considerat un factor de inducere a rezistenţei la antipaludice (14). În caz de eşec la tratamentul cu antipaludice se poate recurge la alte clase terapeutice precum corticosteroizii, thalidomida, dapsona, salazopirina, retinoizii, clofazimina sau imunosupresivele (azathioprina, metotrexatul, micofenolatul de mofetil sau tacrolimusul topic) (15).

Cazul prezentat este interesant prin apariţia acestei forme rare de LECC la copil şi nu la adult, aşa cum este frecvent descris în literatura de specialitate. La aceasta se adaugă aparenta absenţă a leziunilor faciale, fapt ce a îngreunat stabilirea diagnosticului pozitiv de certitudine şi evoluţia rapid favorabilă a leziunilor cutanate sub tratamentul cu hidroxiclorochină. Pacienta va fi periodic monitorizată clinic şi biologic în vederea surprinderii unei eventuale evoluţii a bolii spre LES.

BIBLIOGRAFIE

1. Francès C, Barete S, Ayoub N, Piette JC. Classification des lésions dermatologiques du lupus. *Ann. Med. Interne* 2003 ; 154 : 33-44.
2. Costner MI, Sontheimer RD. Lupus Erythematosus. In : Fitzpatrick's et al. editors. *Dermatology In General Medicine* 6th International edition, McGraw-Hill Professional 2003, Chapter 171 : 1-18.
3. Watson R. Cutaneous Lesions in Systemic Lupus Erithematosus. *Medical Clinics of North America* 1989 ; 73 : 5 : 1091-1111.
4. Zecevic RD et al. Skin lesions-an indicator of disease activity in systemic lupus erythematosus? *Lupus* 2002 ; 10 : 364.
5. Mascara JM, Herrero C, Hausmann G. Uncommon cutaneous manifestations of lupus erythematosus. *Lupus* 1997 ; 6 : 122-131.
6. Crowson AN, Magro C. The cutaneous pathology of lupus erythematosus : a review. *J Cutan Pathol* 2001 ; 28 : 1.
7. Vianer M et al. Clinical and histopathologic features and imunologic variables in patients with severe chilblains. A study of the relationship to lupus erythematosus. *Medicine* (Baltimore) 2001 ; 80 : 180.
8. Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997 ; 40 : 1725-1734.
9. Franceschini F et al. Chilblain lupus erythematosus is associated with antibodies to SSA/Ro. Lupus 1999 ; 8 : 215.
10. Grunwald JE et al. *American Journal of Ophthalmology* 2001 ; 131(6) : 751-755.
11. Fraunfelder FT et al. *Drug-Induced Ocular Side Effects*, 5th ed. (Woburn, Mass. : Butterworth Heinemann, 2001).
12. Marmor, M. F. et al. *Ophthalmology* 2002 ; 109(7) ; 1377-1382.
13. Jones SK. Ocular toxicity and hydroxychloroquine : guidelines for screening. *Br J Dermatol* 1999 ; 140 : 3-7.
14. Jewell ML, McCauliffe DP. Patients with cutaneous lupus erythematosus who smoke are less responsive to antimalarial treatment. *J. Am. Acad Dermatol* 2000 ; 42 : 983.
15. Callen JP, Management of antimalarial-refractory cutaneous lupus erythematosus. *Lupus* 1997 ; 6 : 203-208.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MONONUCLEOZA INFECŢIOASĂ SEVERĂ ASOCIATĂ CU ADMINISTRAREA CIPROFLOXACINEI ŞI SALAZOPIRINEI

Egidia Miftode, Daniela Leca, V. Luca
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Disciplina de Boli Infecţioase

A SEVERE CASE OF INFECTIOUS MONONUCLEOSIS ASSOCIATED WITH CIPROFLOXACIN AND SALAZOPYRIN ADMINISTRATION (Abstract). We report a case of rash probably induced by ciprofloxacin and/or salazopyrin administration in a patient with infectious mononucleosis. A 22 year woman developed a maculopapular and petechial eruption in the 3-rd day of ciprofloxacin (given for a genital tract infection) and the 32-nd day of salazopyrin (for a spondylodiscitis). Subsequently she developed a severe hepatitis, shock, and a very important leucocytosis (88 000/mmc) that motivated haematological investigations for a lymphoproliferative syndrome. **Key words**: CIPROFLOXACIN, SALAZOPYRIN, RASH, MONONUCLEOSIS

Infecţia primară cu virusul Epstein-Barr (VEB) la copil este, de regulă, asimptomatică şi însoţită de seroconversie. Dacă infecţia primară survine la adolescent sau la adult manifestarea clinică cea mai frecventă este cea de mononucleoză infecţioasă (MNI) acută. Teoria emergenţei MNI la adolescenţi şi la adulţii tineri se bazează pe următoarele date: o mai bună igienă personală, îmbunătăţirea condiţiilor sanitare, scăderea numărului de membri ai familiei, factori care întârzie infecţia primară cu VEB (1).

PREZENTAREA CAZULUI

Prezentăm cazul unei paciente de 22 ani, din mediul rural, care se internează în Clinica de Boli Infecţioase pentru febră (40°C), frisoane, erupţie generalizată pruriginoasă, icter scleral, fenomene instalate brusc cu 6 zile anterior spitalizării.

De menţionat că pacienta a fost diagnosticată cu spondilodiscită nediferenţiată (cu 2 luni anterior momentului de debut al afecţiunii febrile), pentru care a primit tratament cu salazopirină, medicaţie stopată în momentul apariţiei manifestărilor cutanate şi digestive.

Pacienta a fost spitalizată în prealabil la spitalul din Botoşani unde explorările biologice au evidenţiat următoarele: TGP 139UI/L, leucocite 10800/mmc, trombocite 127000/mmc, indice Quick 40%, IgM anti VEB negativ, Ag HBs absent, serologie HIV negativă, celule lupice absente. Deoarece din hemoculturi s-a izolat o tulpină de stafilococ coagulazo-negativ, în condiţiile în care starea generală s-a agravat pacienta a fost transferată în clinica noastră cu diagnosticul de „Sepsis stafilococic".

La internare prezenta: stare generală intens influenţată, TA - 80/50 mmHg, erupţie polimorfă maculopapuloasă, urticariană, peteşială pe fondul unui rash generalizat, însoţită de prurit intens, edem al feţei şi edeme palpebrale, mici ulceraţii la nivelul mucoasei linguale, poliadenopatie generalizată (ganglioni de 1-1,5 cm, elastici, nedureroşi).

Subliniem faptul că în momentul apariţiei erupţiei pacienta se afla în a 3-a zi de tratament cu ciprofloxacină (pentru o vaginită cronică), administrarea antibioticului fiind întreruptă la 24 ore după apariţia erupţiei.

Bilanţul hematologic a atestat leucocitoză importantă (88 000/mmc), neutrofile segmentate 15%, nesegmentate 5%, limfoplasmocite 15%, imunoblaşti 10%, limfocite 45%, eozinofile 10%, aspect ce sugera o limfadenopatie angioimunoblastică; tombocitele şi hemoglobina erau normale. Asociat tabloului hematologic prezenta un sindrom hepatocitolitic moderat (ALAT 488UI/L) şi colestatic (bilirubina 36 mg/L) în absenţa IgM anti HAV, a Ag HBs şi a anticorpilor anti HCV.

A fost transferată la Clinica de Hematologie a Spitalului "Sf. Spiridon" cu diagnosticul de „Sindrom mieloproliferativ acut" diagnostic infirmat de aspectul foarte variabil al limfocitelor, care a ridicat suspiciunea unui sindrom mononucleozic, de absenţa anemiei şi trombocitopeniei care ar fi fost argumente pentru o proliferare clonală, de aspectul măduvei osoase (hiperplazică pe seriile eritroblastică şi granulocitară, majoritatea celulelor granulocitare fiind distruse; cu aproximativ 20% limfocite şi limfoblaşti atipici, cu talie variabilă). Pe parcursul spitalizării de 7 zile, după tratamentul cu solumedrol 500mg/zi timp de 2 zile, s-a constatat scăderea rapidă a numărului de leucocite (67 000-45 000-15 000/mmc, limfocite 59% - polimorfe), creşterea progresivă a ALAT (385-1950-3300UI/l), iar imunofenotiparea din sângele periferic a atestat fenotipul de limfocit T citotoxic şi modificarea raportului Th/Ts.

Deoarece serologia IgM anti VEB s-a pozitivat (21,98; > 11 pozitiv) pacienta a fost transferată în Clinica de Boli Infecţioase unde a fost spitalizată timp de 3 săptămâni. Evoluţia a fost marcată de regresia foarte lentă a erupţiei de tip polimorf, tegumentele prezentând un aspect tigrat cu descuamare furfuracee din a 2-a săptămână de spitalizare, cu scăderea progresivă a valorilor ALAT până la 400UI/L în momentul externării şi a leucocitelor la 8500/mmc cu neutrofile 75%; pacienta a dezvoltat un sindrom depresiv moderat, o infecţie urinară cu *E. coli* şi un episod infecţios respirator fiind tratată cu cefoperazonă (antibiotic beta-lactam care nu a dus la exacerbarea manifestărilor cutanate), soluţii perfuzabile de reechilibrare hidro-electrolitică şi acido-bazică, simptomatice.

DISCUŢII

La cazul descris mai sus putem scoate în evidenţă două particularităţi care pretează la discuţii:

- dacă erupţia din mononucleoză este indusă doar de ciprofloxacină sau este implicată şi salazopirina;
- dacă severitatea sindromului hepatocitolitic este plurifactorială: medicamentoasă şi virală.

Este bine documentată în literatura de specialitate implicarea antibioticelor ß-lactam în producerea rash-ului din cursul mononucleozei infecţioase, mai recent existînd semnalări prin care şi azitromicina are acelaşi efect (2).

Leziunile tegumentare sunt nespecifice, iar mecanismul de producere rămâne încă incomplet elucidat. Ca mecanisme potenţiale ce stau la baza dezvoltării rash-ului au fost sugerate alterarea metabolismului medicamentului sau un proces mediat imun. Erupţia este, în general, autolimitantă şi se remite în cîteva zile de la întreruperea agentului antimicrobian (3).

Până în prezent asocierea dintre o fluoroquinolonă şi exantemul din MNI s-a limitat la descrierea unui caz în care levofloxacina a fost implicată în inducerea unei erupţii similare cu cea determinată de ampicilină (4).

Ciprofloxacina determină reacţii adverse cutanate la aproximativ 1% din pacienţi, acestea fiind de trei tipuri: fotosensibilizare, paniculită lobară şi vasculită cutanată. La pacienta noastră relaţia temporală dintre durata antibioterapiei şi momentul apariţiei erupţiei, posibila afectare hepatică prealabilă indusă de salazopirină şi cea din cadrul MNI (dat fiind posibilitatea prezenţei infiltratului limfomonocitar hepatic) sunt argumente care ar pleda pentru implicarea ciprofloxacinei şi/sau a salazopirinei în inducerea exantemului (după Naranjo probability scale--implicare posibilă)(5). Asocierea celor două medicamente creşte probabilitatea apariţiei erupţiei dar şi dezvoltarea unei forme severe de hepatită.

Valorile ALAT în mononucleoză sunt, de regulă, de 2-3 ori valoarea normală, iar nivele mai mari de 10 ori normalul impun teste suplimentare pentru excluderea altor cauze de afectare hepatică (6, 7); la cazul prezentat serologiile pentru hepatitele virale A, B şi C au fost negative, iar serologiile pentru HIV şi VDRL au fost, de asemenea, negative.

Mecanismul patogenic ce determină distrucţia celulelor hepatice şi provoacă colestază în cursul infecţiei cu VEB nu este complet elucidat. Se presupune că VEB nu are efect citolitic direct pe celulele hepatice, distrucţia acestor celule fiind cauzată de acţiunea toxică a radicalilor liberi prin peroxidarea lipidelor. Pacienţii cu MNI au autoanticorpi direcţionaţi împotriva superoxid-dismutazei, ce neutralizează acţiunea antioxidantă a enzimei. Rezultatul acestei acţiuni este reprezentat de acumularea radicalilor liberi în celulele hepatice şi producerea de leziuni la acest nivel (8).

Efectele adverse ale salazopirinei menţionate la numeroase cazuri raportate în literatura de specialitate constau în: faringită, rash, poliadenopatie, hepatită şi hipereozinofilie, fenomene care survin, de regulă, la aproximativ 3 săptămâni de tratament. Stoparea imediată a medicamentului este obligatorie, dar frecvent ineficientă în cazul instalării hepatitei fulminante (9).

Un alt element particular al cazului prezentat este reprezentat de valorile foarte mari ale numărului de leucocite (în general fiind întâlnite valori de 15 000-20 000/mmc) şi care, în lipsa unei serologii IgM anti VEB iniţiale (dar care s-a pozitivat la 10 zile de la debut) au orientat diagnosticul spre un sindrom limfoproliferativ acut ce a impus consultul hematologic şi extinderea investigaţiilor (puncţie sternală, imunofenotipare din sângele periferic, etc).

Evoluţia severă a MNI şi dezvoltarea complicaţiilor infecţioase (infecţie urinară, infecţie respiratorie) au ca mecanism predispozant starea disimunitară din cadrul bolii (fiind excluse alte eventuale stări de imunodepresie); aceste fenomene au impus o monitorizare ulterioară care a permis stabilirea revenirii ALAT la valori normale.

CONCLUZII

Cazul prezentat aduce în discuţie posibilitatea inducerii exantemului din MNI de către un alt antibiotic, ciprofloxacina sau de către salazopirină. Ca urmare a acestei semnalări trebuie avut în vedere diagnosticul de MNI la cei care dezvoltă o erupţie în cursul tratamentului cu fluoroquinolone/salazopirină, cu atât mai mult cu cât o afectare hepatică preexistentă creşte riscul instalării efectelor adverse cutanate, iar datele de laborator sugestive pentru o infecţie acută cu VEB pot fi absente în momentul prezentării la medic.

BIBLIOGRAFIE

1. Tattevin P, Tulzo Y, Minjolla S et al. Increasing incidence of severe Epstein-Barr virus-related infectious mononucleosis: Surveillance study. *J Clin Microb*; 5: 1873-1874.
2. Obeid KH, Kanj SS, Dakdouki GK. Azithromycin-induced rash in infectious mononucleosis. *Scand J Infect Dis* 2002; 12: 939-941.
3. LeClaire AC. Rash associated with piperacillin/tazobactam administration in infectious mononucleosis. *Ann Pharmacother* 2004; 6: 996-998.
4. Paily R. Quinolone drug rash in a patient with infectious mononucleosis. *J Dermatol* 2000; 27 (6): 405-406.
5. Kànsky A. Excessive use of drugs and adverse events. Epidemiologic and pathogenic aspects. *Acta Dermatoven APA* 2003; 4: 143-149.
6. Aramă V, Străinu Cercel A. *Infecţii cu herpesvirusuri*. Bucureşti: Ed InfoMedica, 2002.
7. Leca D, Miftode E, Luca C, Petrovici C, Covaciuc D, Luca V. Hepatita mononucleozică. *Infectio.ro*. 2006; 4: 58-60.
8. Canovic P, Gajovic O, Todorovic Z, Mijailovic Z. Epstein-Barr virus hepatitis associated with icterus—a case report. *Med Pregl* 2006; 59 (3-4): 179-82.
9. Besnard M, Debray D, Durand P, Fabre M, Chardot C, Cezard JP. Salazopyrin-induced fulminant hepatitis in two children treated for Crohn's disease. *Arch Ped* 1999; 6: 643-646.

NOUTĂŢI

MODULAREA PROCESELOR INFLAMATOARE PRIN ABORDUL GENETIC ŞI FARMACOLOGIC AL FOSFOINOZITID - 3 - KINAZEI - γ STABILIZEAZĂ PLACA DE ATEROM

Este deja recunoscut rolul inflamaţiei în mecanismul patogenetic al tuturor stadiilor aterosclerozei şi, în prezent, există eforturi de cercetare pentru abordarea farmacologică a acestei verigi etiopatogenice. Fosfoinozitid - 3 - kinaza - γ (PI3K γ) este un derivat lipidic implicat în procese inflamatorii, autoimune, alergice, dar şi în ateroscleroză. Inhibitorul specific al PI3K γ (AS605240) a fost testat în modele experimentale de ateroscleroză efectuate pe murine. Administrarea intraperitoneală de AS605240 (10 mg/kg zilnic) a determinat diminuarea producerii de leziuni aterosclerotice la şoarecii cu deficit genetic de apolipoproteină E şi la cei cu scăderea numărului de receptori pentru LDL. Atât la om cât şi în modelele experimentale, nivelul PI3K γ a fost crescut în leziunile aterosclerotice. Inhibarea activităţii acestui derivat lipidic a fost urmată de un proces de stabilizare al plăcii de aterom, însoţit de scăderea infiltrării cu macrofage şi celule T. Această nouă moleculă ar putea intercepta dezvoltarea plăcii de aterom în mai multe etape ale sale: constituirea striurilor lipidice, infiltrarea cu celule şi formarea învelişului fibros (Fougerat A, Gayral S et al. Genetic and pharmacological targeting of phosphoinositide 3-kinase-γ reduces atherosclerosis and favors plaque stability by modulating inflammatory processes, *Circulation* 2008; 117: 1310-1317).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

PRINCIPII GENERALE DE MANAGEMENT CLINICO-TERAPEUTIC ÎN FISTULELE ENTERALE EXTERNE POST-OPERATORII

Iulia Munteanu, S. Ştefan, C.Burcoveanu, S. Pădureanu, C. Bulat
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica a III-a Chirurgicala
Centrul de Cercetare în Chirurgia Oncologica şi Training în Chirurgia Generala

GENERAL PRINCIPLES OF CLINICAL AND THERAPEUTIC MANAGEMENT IN POSTOPERATIVE EXTERNAL ENTERAL FISTULAS (Abstract): Postoperative enterocutaneous fistulas represent a frequent complication in the emergency or cancerous digestive surgery. As to the high level of mortality and morbidity caused by this type of postoperative complication (4%), efforts are made to establish the principles of therapeutic management, on the purpose of decreasing these indicators and thus lowering the prolonged hospitalisation afferent costs. **Key words**: ENTEROCUTANEOUS FISTULA, SEPSIS

Fistulele post-operatorii entero-cutanate se caracterizează printr-un polimorfism lezional ce poate avea consecinţe vitale importante, fiind grav compromise digestia şi absorbţia intestinală; cel mai frecvent se produc prin dezunire anastomotică într-un context local sau general defavorabil cicatrizării. Frecvenţa acestor complicaţii postoperatorii ce pot fi grave este variabilă, cu valori de 3‰ (1) sau de 1,5‰ (2). Pe cazuistica studiată în perioada 1989-2007 frecvenţa fistulei enterocutanate a fost de 2%.

MATERIAL ŞI METODĂ

Aceasta lucrare analizeaza retro- şi prospectiv 65 de cazuri de fistule enterale externe postoperatorii spitalizate în clinica în perioada 1989-2007. Studiul s-a efectuat pe baza foilor de observaţie clinică chirurgicală, reanimare şi a condicilor de protocol operator; fistula enterală externă post-operatorie este definită ca o deschidere anormală a lumenului intestinal, la exterior, cu scurgerea parţială sau totală a conţinutului său.

REZULTATE

Pe cazuistica studiată la 40 pacienţi fistula postoperatorie s-a constituit pe teren neoplazic (61%); la 55 pacienţi fistula postoperatorie s-a realizat prin dezunire anastomotică şi la 10 pacienţi prin leziuni de decubit produse de tuburile de dren.

Etiologia este complexă; în aproape 50% din cazuri survine după chirurgia de urgenţă. Ca şi factori etiologici am putea menţiona: enterectomii efectuate în mediu septic, drenaj peritoneal incorect, manevre operatorii traumatizante, corpi străini, anse expuse într-o evisceraţie fixată, starea preoperatorie a intestinului subţire (boli inflamatorii: boala Crohn, enterita necrozantă). De fapt este un cumul de factori la care se adaugă factori generali şi afecţiuni asociate: hipoproteinemia, vârsta, tulburări hidroelectrolitice; cel mai frecvent compromiterea unei enterectomii este indusă de sepsis şi distensia anselor.

Evoluţia clinică poate fi sistematizată în 3 perioade: prefistulară, de constituire şi de cronicizare a fistulei. Perioada prefistulară se caracterizează prin semne de ocluzie sau de peritonită la care se asociază febră, leucocitoză, iar plaga operatorie nu are tendinţa la cicatrizare. Constituirea fistulei conduce la atenuarea semnelor de iritaţie peritoneala; exteriorizarea fistulei se face cel mai frecvent între a 5-a şi a 10-a zi post-operator; este foarte important de apreciat dacă fistula este laterală (în circuitul digestiv), unică sau multiplă şi survine pe teren malign.

DISCUŢII

Scăderea ratei mortalităţii de la 50% cât era în 1960 pentru fistulele enterale (3) la procente ce variază astăzi între 1,5%-2% (4) arată o sistematizare corectă, secvenţială a principalelor gesturi terapeutice; această abordare sistematică a fistulei, necesară cunoaşterii anatomiei, etiologiei, fiziologiei şi evaluării corecte a fistulei este esenţială adoptării strategiei terapeutice cele mai adecvate pentru susţinerea funcţiilor vitale şi obiectivează utilizarea termenului de management terapeutic pentru luarea deciziilor optime şi reglarea proceselor biologice (tab. I).

TABELUL I

Principii generale de management în fistulele digestive

Stabilizare
Reechilibrarea hidroelectrolitică şi a balanţei acidobazice
Drenajul abceselor
Nutriţie totală parenterală
Îngrijirea pielii care înconjoară fistula
Antibioterapie specifică
Investigaţii
Fistulogramă
Rx gastroduodenală (doar dacă e indicată)
Urogramă excretorie
Ultrasonografie
Tomografie computerizată
Decizie
Operaţia este indicată?
Natura şi comportarea drenajului
Natura fistulei
Criterii imagistice
Cancer
Radiaţie
Boala inflamatorie a intestinului
Natura peretelui abdominal
Terapie definitivă
Inchidere spontană
Corecţie operatorie
Vindecare

Principalele gesturi terapeutice s-ar putea sistematiza astfel:

1. hidratarea şi corectarea dezechilibrelor hidroelectrolitice reţine imediat atenţia.
2. controlul infecţiei prin antibioterapie specifică şi drenajul rapid al colecţiilor abdominale; o fistulă nu se închide spontan în prezenţa unei colecţii nedrenate; s-a constatat că atunci când sepsisul a fost controlat, rata de închidere spontană a fistulei a fost de 60% comparativ cu 48% când nu a fost controlat; sepsisul creşte şi rata mortalităţii până la 85%.
3. controlul extern al drenajelor ajută la micşorarea ratei morbidităţii.
4. punerea în repaus a segmentului de tub digestiv fistulizat prin suspendarea alimentaţiei orale şi utilizarea tuburilor de decompresiune - aspiraţie nazogastrică.
5. corectarea malnutriţiei imediat ce starea pacientului este stabilizată prin introducerea cât mai rapidă a nutriţiei parenterale şi a alimentaţiei orale dacă este posibil, în fistulele cu localizare distală pe tubul digestiv.
6. terapia cu inhibitori specifici organosecretorii - pentru intestin, somatostatine.

Sub tratament medical corect condus se poate realiza închiderea spontană a fistulei în 2-3 luni, în 71-76% din cazuri (5).

Un potenţial de gravitate evolutivă deosebită o reprezintă fistulele cu debit mare deoarece antrenează dezechilibre hidroelectrolitice, proteice, vitaminice şi minerale; evoluţia zilnică a debitului fistulei permite controlul eficacităţii protocolului terapeutic şi are valoare prognostică certă; toxicitatea lichidului fistulos dată de corozitatea sa prin activitatea tripsinică se exercită asupra pielii, peritoneului şi orificiului aferent, putând determina necroze importante şi alterari ale peretelui abdominal, care sunt cu atât mai grave cu cât fistula este situată mai proximal; de asemeni la producerea necrozei cuatanate contribuie şi septicitatatea lichidului fistulos prin contaminare cu floră digestivă.

Diagnosticul paraclinic este absolut necesar pentru precizarea caracterelor anatomo-patologice ale fistulei:

- tranzitul cu albastru de metilen obiectivează fistula; ne orientează dignosticul când nu sunt posibile alte explorari;
- examenul ecografic, rezonanţa magnetică nucleară, precizează existenţa colecţiilor între anse; 20% din fistulele intestinului subţire se complica prin abcese nedrenabile prin fistulă; mai importante sunt abcesele la distanţă, care necesita drenaj chirurgical obligatoriu;
- radiografia abdominala simpla poate evidenţia anse dilatate, prezenţa de imagini hidro-aerice;
- fistulografia este un examen important; se poate efectua la 10 zile post-operator cu un produs hidrosolubil şi permite vizualizarea traiectului fistulos şi uneori a colecţiilor peritoneale. Fistula enterală neidentificată şi nedrenată corespunzător evoluează către peritonită, cu deshidratare şi denutriţie până la stare de şoc.

Fistulele enterale grave sunt de obicei situate în porţiunea proximala jejunală; sunt terminale şi cu un debit mai mare de 500 mL/24 h; conduc la tulburări electrolitice şi de nutriţie accentuate, determinând frecvent insuficienţa organica multipla, ce conduce la deces.

Complicaţiile apar frecvent şi sunt multiple în evoluţia clinică a unei fistule enterale:

- ocluzia intestinala se poate produce prin aglutinarea anselor în jurul unei colecţii septice şi cedeaza dupa drenajul acesteia;
- starea septică este factor de prognostic agravant şi evoluează o dată cu constituirea fistulei; trebuie să constituie principalul obiectiv terapeutic , fiind principala cauză a evoluţiei nefavorabile imediate; colecţiile septice existente se dreneaza obligatoriu;
- icterul poate însoţi frecvent sepsisul;
- insuficienţa renală acută funcţionala complică frecvent o fistulă cu dezechilibre hidro-electrolitice;

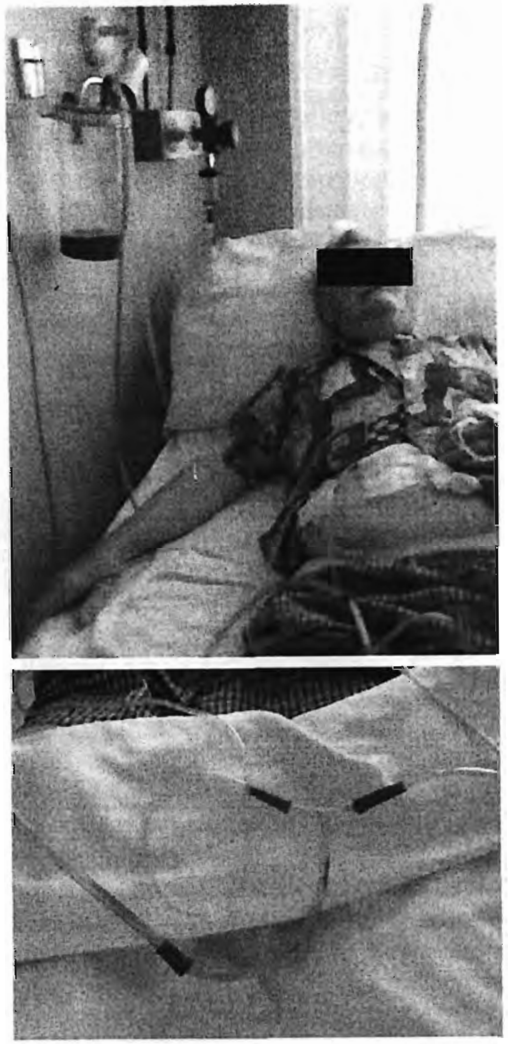

[redacted]

Fig. 1. Drenaj aspirativ montat în „Y" pentru fistulă postoperatorie externă dublă, de bont duodenal şi entero-enterală

- tromboflebita, embolia pulmonară, complică evoluţia unei fistule în proporţie de 2-7%. Mortalitatea generală prin fistulă enterală externă post-operatorie este mai mare de 4% (5).

Tratamentul general corect instituit este obligatoriu; va fi precedat de evaluarea corectă a fistulei, ţinând cont de toţi parametrii expuşi anterior.

Tratamentul local începe de rutina cu drenaj aspirativ (fig. 1); tegumentele sunt protejate cu pudra Karaya şi Stomahesive.

În momentul constituirii unei fistule, atât chirurgul cât şi reanimatorul trebuie să decidă dacă se impune sau nu intervenţia chirurgicală, cât poate fi temporizată şi când este momentul acesteia, dacă primul gest terapeutic este cel conservator, ce metoda de nutriţie sa aleaga, daca se face tratament local.

Pentru toate echipele de chirurgi şi nutriţionişti este foarte importantă ierarhizarea corectă a diverselor scheme terapeutice cu scopul închiderii spontane a fistulei şi scăderii mortalitaţii.

Menţinerea echilibrului hidro-electrolitic şi funcţional se realizează prin nutriţie parenterala şi enterala când este prezent tranzitul intestinal. Alimentaţia parenterala se realizeaza prin cateter venos central folosind formule hipercalorice conform necesităţilor şi standardelor (tab. II).

TABELUL II
Prescripţiile pentru o zi pentru TPN

Calorii:
-2000 kcal asigurate de 1000 ml D50 (50% dextroz?, deci 500 g dextroz?)
Proteine:
-8,5% soluţie de aminoacizi = 85 g proteine/L x 1L
Minerale:
Na+ : 70 mEq
K+ : 60 mEq
Total cationi: 130 mEq
Cl- : 50 mEq
Acetat- : 65 mEq
Fosfat 2- : 15 mEq
Total anioni: 130 mEq
Ca2+ (gluconat): 10 mEq
Mg2+ (sulfat): 10 mEq
Oligoelemente:
Cu: 1,0 mg
Cr: 0,01 mg
Mn: 0,5 mg
Zn: 5,0 mg
Vitamine:
Soluţii de subvitamine:
Acid folic: 0,4 mg
B12: 5 mg
Vitamina K: 1,0 mg
Total:
Volum: 2500 ml
Calorii nonproteice: 2000-2450 ml
Calorii proteice: 180 kcal/g nitrogen

Cei mai mulţi autori subliniază că utilizarea TPN (total parenteral nutrition) mai mult de 10 zile creşte morbiditatea prin sepsis, prin atrofia reversibilă a mucoasei digestive, care favorizează astfel fenomenul de translocaţie bacteriană, care poate iniţia MSOF (multiple system organ failure); toate studiile recente recomanda asocierea nutriţiei enterale când este posibil (tranzit prezent). Cea mai bună este alimentaţia enterala continuă cu debit mic cu amestecuri nutritive cu mare toleranţa digestiva şi nivel caloric ridicat; cea mai simplă este alimentaţia orală lichidiană, fără solide, dar măreşte debitul fistulei şi obstrueaza tuburile de dren.

Chimioterapia antiexocrină este complementară TPN şi vizează punerea în repaus complet a intestinului şi pancreasului.

În practică se utilizează Sandostatinul, după utilizarea sa observându-se închiderea spontană a fistulei în 4-5 zile (6).

Sepsisul asociat fistulei entero-cutanate este grav; antibioterapia se aplică încă din perioada prefistulară şi se dreneaza toate colecţiile septice existente.

Regula de succes a terapiei instituite este menţinerea tratamentului medical conservator până la stabilizarea pacientului.

Dupăinstituirea tratamentului medical, cel mai frecvent, chirurgul se găseşte într-o faza de temporizare condiţionată de criterii bine stabilite:

- diureză prezentă;
- stare hemodinamică stabilă;
- absenţa semnelor de sepsis general;
- tranzit intestinal prezent.

Majoritatea chirurgilor şi reanimatorilor sunt adepţii tratamentului medical conservator iniţial.

Reintervenţia chirurgicală este de obicei laborioasă şi impune chirurgului un antrenament deosebit, cât şi necesitatea inventarierii minuţioase a leziunilor.

Tratamentul chirurgical se referă la atitudinea faţă de orificiul şi traiectul fistulei, la practica jejunostomiei în scop nutriţional, sau a unor procedee de lavaj şi drenaj peritoneal larg.

CONCLUZII

Fistulele enterale externe post-operatorii trebuie considerate în continuare grave.

Intervenţia chirurgicală vizează suprimarea pierderilor digestive, a cauzei care a dat naştere sau întreţine fistula.

Mortalitatea generală prin fistulă enterală externă post-operatorie este, pe cazuistica studiată, de 5% ; aceasta mortalitate ridicată se explică prin asocierea frecventă a fistulei cu sepsisul şi justifică atenţia care s-a acordat permanent atât de chirurgi cât şi de reanimatori acestor complicaţii post-operatorii.

Un alt aspect important este preţul de cost ridicat prin spitalizarea prelungită şi medicaţia aferenta a acestor bolnavi.

Progresele înregistrate de tehnicile operatorii (sutura mecanica) cât şi metodele moderne de reanimare şi terapie intensivă au condus totuşi la scăderea importantă a valorilor morbidităţii şi mortalităţii prin fistulele enterale externe post-operatorii.

BIBLIOGRAFIE

1. Levy E, Hannoun L, Parc R, Honiger J, Huguet C, Laygue J. Le drainage actif prolonge des pancreatites aigues necrotico-hemoragiques. Indications. Techniques. Resultats preliminaires. A propos de 26 cas. *Ann Chir* 1984 ; 38 : 351-356.
2. Scott NA, Finnigan S, Irving MH. Octreotide and postoperative enterocutaneous fistulae : a controlled prospective study. *Acta Gastroenterologica Belgico* 1993 ; 56 : 266-270.
3. Roşca M. *Fistulele digestive externe post-operatorii*. Cluj-Napoca : Ed. Dacia, 1983.
4. Torres A, Lando J, Morean-Azcaitia M. Somatostatin in the management of gastrointestinal fistulae. *Arch Surg* 1992 ; 97-100.
5. Munteanu I, Dolinescu C, Dragomir Cr, Stoian M, Dăscălescu Cr, Macrinici S, Stratan I. Reintervenţii pentru fistulele digestive înalte externe post-operatorii. *Simpozionul Interjudetean de Chirurgie*, Bacău, 25-27.09.1997.
6. Munteanu I, Andriescu L. *Riscul fistulei digestive post-operatorii, externe, înaltă. Factori etiopatogenici anatomici şi nutriţionali – clinica – principii terapeutice*. Iaşi : Ed. Cermi, 1998, 154-161.
7. *** *Anaesthesia and Intensive Care – Practical Procedures*. Neil Soni-Heineman Professional Publishing, 1989, 12-16, 31-35.
8. Berry S, Fischer J. Enterocutaneous fistulas. *Probl Surg* 1994 ; 31 : 469-566.
9. Burch JM, Cox CL, Feliciano DV Management of the difficult duodenal stump. *Am J Surg* 1991 ; 162 : 522.
10. Chapman R, Foran R, Dunphy J. Management of the intestinal fistulas. *Am J Surg* 1964 ; 105 : 155-164.

11. Chipail GG, Dragomir Cr, Maica V. *Tratamentul ulcerului gastro-duodenal perforat*. Iaşi : Ed. Junimea, 1981, 93-154, 169-170.
12. Kahlhardt SR, Smith RC, Rase A, Allen B. Effect of high-nitrogen intravenous nutrition in total body nitrogen, visceral protein synthesis and nitrogen balance. *Br J Surg* 1995 ; 82 (1) : 64-68.
13. Kneppers PM, Miller TA, Cheng Yk, Smith GS, Rodriguez LF, Moody FG. Effect of parenteral nutrition plus morphine on bacterial translocation in rats. *Ann Surg* 1993 ; 217 : 268-292.
14. Levy E, Frileux P, Cugnec PH. High output external fistulae of the small bowel : Management with continuous enteral nutrition. *Br J Surg* 1989 ; 76 : 676.
15. Marescaux J, Evrard S, Miranda E. Traitement actuel des fistules digestives postoperatoires. *La Revue du Practicien* 1991 ; 1.
16. Munteanu I, Dăscălescu Cr, Stratan I, Andriescu L, Carasievici E, Dragomir Cr. Clinical and biological characteristics of high poastoperative digestive fistulae of neoplasia actiology. *Official Journal of the Balkan Union of Oncology* (First Balkan Congress of Oncology), July 3-7, Athens, Greece.
17. Sancho JJ, Hernandez R, Girvent M, Sitges-Serra A. Management of enterocutaneous fistulas. *Dig Surg* 1997 ; 14 : 483-941.
18. Sancha JJ, Castanza J Di, Nubiola P et al. Randomized double blind placebo-controlled trial of early octreotide in patients with postoperative enterocutaneous fistula. *Br J Surg* 1995 ; 85 (5) : 638-641.
19. Torres A, Lando J, Morean-Azcaitia M. Somatostatin in the management of gastrointestinal fistulae. *Arch Surg* 1992 ; 127 : 97-100.

NOUTĂŢI

INFLUENŢA SISTEMELOR DE ALBIRE ASUPRA DURITĂŢII SMALŢULUI

Ameliorarea esteticii dentare prin tratamente de albire se poate realiza prin tratamente profesionale aplicate în cabinetul de medicină dentară dar şi prin utilizarea unor agenţi de albire comercializaţi pentru administrare la domiciliu, fără recomandare sau supraveghere de specialitate. Aceste produse au în general concentraţii mai reduse de substanţă oxidantă, fiind considerate ca lipsite de risc de către majoritatea pacienţilor. Autorii studiului au evaluat efectul asupra durităţii smalţului pentru două sisteme de albire administrabile la domiciliu ce conţineau peroxid de carbamidă 10% respectiv peroxid de hidrogen 7,5 %. Regimul de albire a constat din aplicaţii ale sistemelor testate în gutiere, timp de o oră zilnic, 21 de zile consecutiv. Valorile medii iniţiale repectiv finale ale durităţii Knoop au fost de 348 şi 352,2 ; 346,6 şi 354,5 ; 342 şi 340,8, pentru lotul de control, respectiv lotul cu peroxid de carbamidă 10% şi peroxid de hidrogen 7,5%. Analiza statistică nu a demonstrat diferenţe semnificative între loturi, totuşi eşantioanele tratate cu peroxid de hidrogen 7,5% au prezentat o tendinţă descrescătoare a microdurităţii (p = 0.056). Rezultatele sugerează că agenţii de albire testaţi nu au modificat semnificativ smalţul superficial. Totuşi aplicarea pe termen lung a substanţelor ce conţin concentraţii mari de peroxid de hidrogen ar putea influenţa structura şi proprietăţile smalţului (Maia E, Baratieri LN, Caldeira de Andrada MA, Monteiro S Jr, Vieira LC. The influence of two home-applied bleaching agents on enamel microhardness : an in situ study. *J Dent* 2008 ; 36(1) : 2-7).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

EVOLUŢIA PANCREATITEI CRONICE DE ETIOLOGIE ETANOLICĂ LA BOLNAVII DIN NORD-VESTUL ROMÂNIEI

S.T. Barbu[1], C. Vlad[2], M. Cazacu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "I. Haţieganu" Cluj-Napoca
Facultatea de Medicină
1 Clinica Chirurgicală IV
2 Clinica Medicală IV

NATURAL HISTORY OF ALCOHOLIC CHRONIC PANCREATITIS IN NORTH-WESTERN ROMANIA (Abstract) : **Aim** : To describe the natural history of alcoholic chronic pancreatitis (ACP) patients form north-western Romania. **Methods** : We performed a retrospective analysis and a subsequent prospective follow-up (mean = 7.3 years) of 99 patients with ACP. Average duration of ACP was 15.6 years. **Results** : Patients were mostly men (93%), with a mean age of 42.9 years at the time of operation and 35.7 years at the disease onset. Indications for surgery were : intractable pain (12%), complications (83%) and suspicion of malignancy (5%). During the evolution, 35 patients needed two to four surgical procedures. Calcifications developed in 63,6% of patients, steatorrhea in 41,4% and secondary diabetes in 43,4%. **Conclusion** : ACP in north-western Romania is characterized by early onset of the disease and a severe evolution with multiple complications needing repeated surgery. The "burnout" of the disease, with calcifications, secondary diabetes and marked exocrine insufficiency leads to lasting pain relief. **Key words** : ALCOHOLISM COMPLICATIONS ; CHRONIC DISEASE ; DISEASE PROGRESSION ; PANCREATITIS

Pancreatita cronică este o boală inflamatorie progresivă care în ciuda tratamentului (medical, endoscopic, chirurgical) evoluează spre modificări morfologice severe, caracteristice ("ciroza pancreatică") şi insuficienţă funcţională : steatoree şi diabet zaharat secundar (1). Din punct de vedere clinic, boala se caracterizează printr-un spectru larg de simptome şi semne, mai mult sau mai puţin specifice, care variază în funcţie de etiologie, de stadiul de evoluţie şi de prezenţa sau absenţa complicaţiilor. Consumul de alcool este principala cauză a pancreatitei cronice (70-90%), atât în ţările vestice (2,3,4,5,6,7,8,9,10), cât şi în România (11,12,13). Datele despre evoluţia în timp a diferitelor forme etiologice ale pancreatitei cronice sunt încă relativ puţine în literatură (1).

Dacă în fazele avansate cu modificări morfologice tipice şi insuficienţă funcţională severă criteriile de diagnostic sunt bine stabilite, în stadiul precoce de evoluţie, semnele clinice şi imagistice se suprapun aproape în totalitate cu cele ale cancerului pancreatic şi ale pancreatitei acute recurenţiale, făcând diagnosticul diferenţial aproape imposibil în absenţa biopsiei. În această situaţie, cunoaşterea evoluţiei naturale a bolii este considerată de unii autori "coloana vertebrală" a diagnosticului (1,14), fapt ce ar putea fi deosebit de util în ţara noastră, unde explorările imagistice sofisticate (tomografia computerizată -CT-, colangio-pancreatografia endoscopică retrogradă -ERCP-, conlangio-pancreatografia prin rezonanţă magnetică nucleară, ecografia endoscopică) nu sunt încă accesibile în mod curent în toate regiunile.

Scopul studiului de faţă este să descrie evoluţia bolnavilor cu pancreatită cronică etanolică (ACP) din zona de nord-vest a României comparativ cu cea a bolnavilor raportaţi în studiile din ţările vestice.

MATERIAL ŞI METODA

Eşantionul de bolnavi. În perioada de 10 ani 1 ianuarie 1991 - 31 decembrie 2000 au fost operaţi în Clinica Chirurgicală IV Cluj-Napoca 167 bolnavi cu pancreatită cronică, dintre care 123 (73,6%) au avut etiologie etanolică. Dintre aceştia, 24 au fost pierduţi din observaţie în cursul urmăririi postoperatorii, rămânând în studiu un număr de 99 bolnavi cu ACP.

Definiţii. *Diagnosticul de pancreatită cronică etanolică* a fost pus pe baza următoarelor criterii (15) : 1 - antecedente de pancreatită acută recurenţială ; 2 - un consum zilnic de alcool > 80g timp de cel puţin 5 ani ; 3 -prezenţa a una sau mai multe dintre următoarele : a) - leziuni moderate şi/sau severe ale ductelor pancreatice conform "criteriilor de la Cambridge"(16) ; b) - calicificări pancreatice (evidenţiate pe radiografia abdominală sau la CT) ; c) - rezultat anatomopatologic obţinut din piesa de biopsie sau rezecţie chirurgicală. *Durata de evoluţie a bolii* a fost definită ca perioada de timp între debutul ACP (primul episod documentat de pancreatită) şi ultimul control în clinică, sau decesul bolnavului.

Studiul. Bolnavii care au îndeplinit criteriile de diagnostic au fost introduşi într-o bază de date electronică în momentul primei intervenţii chirurgicale efectuate în Clinica Chirurgie IV. Am efectuat un studiu retrospectiv al bolii, prin analiza documentelor furnizate de medicii de familie (bilete de ieşire din alte spitale, rezultatele analizelor şi explorărilor ambulatorii). Postoperator, bolnavii au fost urmăriţi prospectiv (la 3 luni în primul an şi apoi la 6 luni interval) până la data încheierii studiului, 31 august 2006.

Au fost notate simptomele şi evoluţia lor, frecvenţa şi severitatea durerii abdominale, bolile asociate (pre-existente sau apărute pe parcurs), consumul de alcool (cantitatea, ritmul, perioade de abstinenţă), existenţa episoadelor de pancreatită acută, a altor complicaţii ale ACP, tratamentul chirurgical, apariţia calcificărilor, a diabetului zaharat secundar şi a steatoreei.

Durerea a fost gradată ca uşoară (discomfort abdominal sau durere ce nu necesită analgezice), moderată (durere controlată cu analgezice uzuale) şi severă (intensitate mare, greu de controlat cu analgezice uzuale, produce incapacitate de muncă) (17). Dispariţia durerii (ameliorarea persistentă) a fost definită ca absenţa durerii pentru un interval > 2 ani (18).

Analiza datelor. Rezultatele datelor cantitative au fost exprimate sub formă de medie. Semnificaţia statistică a diferenţelor dintre eşantionul nostru de bolnavi şi cele raportate în alte studii din literatură a fost evaluată cu testul *t* - Student pentru variabile independente. Valoarea lui $p < 0,05$ a fost considerată semnificativă statistic. Analiza a fost efectuată cu programul Statistica™ (data analysis software system) versiunea 6.0 (StatSoft, Inc. 2001).

REZULTATE

Distribuţia geografică a bolnavilor luaţi în studiu în judeţele din nord-vestul României (fig. 1 şi 2) este o distribuţie apropiată de cea normală (gaussiană).

În consecinţă, putem considera că eşantionul studiat este reprezentativ pentru această regiune. Cazurile din eşantion nu reprezintă prevalenţa ACP în aceste judeţe, ci adresabilitatea bolnavilor din această zonă la clinica noastră.

Durata medie de evoluţie a ACP la sfârşitul studiului a fost de 15,6 ani (tab. I).

Vârsta medie a bolnavilor la debutul

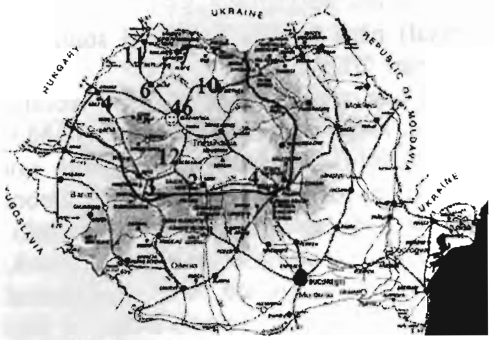


Fig. 1. Distribuţia cazurilor cu ACP

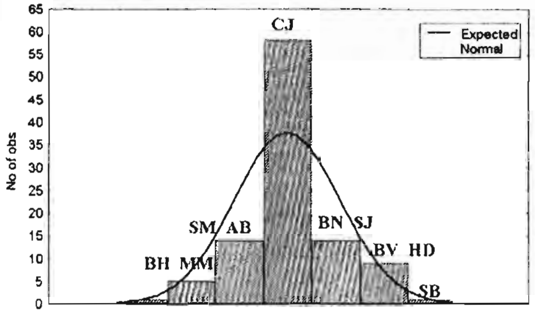


Fig. 2. Histograma distribuţiei geografice

TABELUL I

Durata medie de evoluţie a ACP pentru cei 99 bolnavi

Durata evoluţiei ACP	Medie (ani)	Limite (ani)
Studiu retrospectiv	8.3	5.5 – 13.2
Urmărire prospectivă	7.3	3.5 – 12.1
Total	15.6	9.2 – 18.7

TABELUL II

Vârsta la care debutează boala şi prevalenţa sexului masculin

Autorul, anul publicării (bibliografia)	Ţara	Nr. bolnavi	Vârsta medie la debutul bolii (ani)	Procentul de bărbaţi	*t*-test
Studiul nostru	**România**	**99**	**35,7**	**92,9**	-
Ammann 1999 (18)	Elveţia	290	37	91,3	ns
Lankisch 2001 (17)	USA	372	43,9	72	S
Lowenfels 1994 (19)	multinaţional	2015	46	79,3	S
Levy 1989 (20)	Franţa	240	41,5	84,6	S
Dani 1990 (10)	Brazilia	797	36,5	95,5	ns
Robles-Diaz1990 (21)	Mexic	150	36,7	95	ns

ns = nesemnificativ statistic ; S = semnificativ statistic

TABELUL III

Consumul de alcool la bolnavii studiaţi

	Media	Minim	Maxim
Cantitatea de alcool consumată (grame/zi)	216,5	65	450
Durata consumului de alcool înainte de debutul bolii	8,7 ani	5,4 ani	12,1ani

pancreatitei cronice şi procentul de bărbaţi sunt prezentate în tabelul II, comparativ cu alte studii publicate în literatură.

Stilul de viaţă al bolnavilor. *Consumul de alcool* este prezentat în tabelul III. Majoritatea bolnavilor (89,9%) consumă băuturi tari (predominant ţuică) şi doar 11,1% (nr=11) au abandonat consumul de alcool pe parcursul studiului. Intervalul de timp postoperator după care se reia consumul variază între 3 şi 12 luni. *Fumatul* a fost prezent la 69,7% din bolnavi, cu o medie de 20,9 ţigări/zi (limite 5 şi 40 ţigări/zi), iar *dieta bogată în grăsimi* la 72,7% din bolnavi.

Durerea a fost simptomul dominant, prezent la 94 bolnavi (94,95%). La 5 bolnavi, ACP a evoluat fără durere (tab. IV). Localizarea durerii a fost: epigastrică la 24,3%, în hipocondrul drept la 20,2%, în hipocondrul stâng la 11,1%, iradiată "în bară" la 39,4%, peste tot în abdomen la 5%. Apariţia durerii a fost precoce postalimentar (la 30-60 minute), motiv pentru care, în perioada precoce a bolii, fără modificări structurale evidenţiabile imagistic, a fost confundată cu durerea ulceroasă (10 bolnavi) sau cu colica biliară (7 bolnavi) şi tratată ca atare timp de mai mulţi ani. Afirmativ, alcoolul ameliorează durerea la 88,8% din bolnavi. Durerea a fost *periodică* la 82 bolnavi (87,2% din cei 94 cu durere prezentă), tipică pancreatitei acute recurenţiale, caracterizată prin episoade dureroase < 10zile, separate prin intervale libere de până la 1 an. Intensitatea durerii periodice a fost severă sau moderată. La 12 bolnavi, durerea a fost *persistentă*, caracterizată prin episoade prelungite de durere zilnică (exacerbată noaptea şi postalimentar), de intensitate mare, cu intervale scurte şi rare de ameliorare.

TABELUL IV

Procentul de ACP indolore, comparativ cu alte serii publicate

Autorul, anul (bibliografia)	Ţara	Nr. Bolnavi ACP	Procent de ACP indolore	*t*- test
Studiul nostru	**România**	**99**	**5,05%**	-
Ammann 1984 (23)	Elveţia	173	6%	ns
Hayakawa, 1989 (24)	Japonia	88	15%	S
Lankisch 1993 (8)	Germania	230	3,5%	ns
Layer 1994 (9)	Germania	249	16%	S
Robles-Diaz1990 (21)	Mexic	100	18%	S

ns = nesemnificativ statistic ; S = semnificativ statistic

TABELUL V

Complicaţiile care au necesitat tratament chirurgical

Complicaţia	Nr	Complicaţia	Nr
Episoade acute severe	19	Stenoză duodenală	6
Pseudochiste pancreatice	38	Ascită pancreatică	5
Stenoza coledocului cu icter	27	Malignizare	3
Abcese pancreatice	21	Stenoză de colon	2
Tromboza venei splenice	19	Fistulă pancreatico-pleurală	1

TABELUL VI

Caracteristici de pancreatită cronică severă la sfârşitul studiului

	La introducerea în studiu Nr bolnavi (%)	La sfârşitul studiului Nr bolnavi (%)	Ref. 17,18	*t* - test
Calcificări	42 (42,4%)	63 (63,6%)	59%70%	ns
Diabet zaharat	26 (26,2%)	43 (43,4%)	41%50%	ns
Steatoree	21 (21,2%)	41 (41,4%)	37%55%	ns

ns = nesemnificativ statistic

TABELUL VII

Ameliorarea persistentă a durerii şi numărul de decese

	La sfârşitul studiului	Ref. Nr. 17, 18	*t* - test
ameliorarea durerii >2ani	66 bolnavi (66,6%)	65%; 80%	ns
decese	27 bolnavi (27,2%)	29%; 23%	ns

ns = nesemnificativ statistic

Indicaţia operatorie *pentru durere* s-a făcut la cei 12 bolnavi cu durere persistentă (12,1%). procent semnificativ diferit de seriile raportate în ţările vestice, unde operaţiile pentru durere sunt preponderente – 52-80% (17,18,22). Chirurgia *pentru complicaţiile ACP* a reprezentat 82,85% din indicaţiile operatorii la seria noastră de bolnavi, de asemenea semnificativ diferit de seriile vestice publicate. Operaţiile *pentru* *suspiciunea de malignitate* (5,05%) nu au prezentat diferenţe semnificative faţă de alte date publicate în literatură.

Complicaţiile ACP. Bolnavii din eşantionul studiat s-au caracterizat nu numai prin prezenţa unui mare număr de complicaţii ce au necesitat intervenţii chirurgicale (tab. V), dar şi prin operaţii repetate pentru complicaţii la acelaşi bolnav, astfel, în decursul evoluţiei, 29 bolnavi au necesitat 2 operaţii, 4 bolnavi câte 3 operaţii, şi 2 bolnavi câte 4 operaţii. Au fost 9 bolnavi care prezentau 2 complicaţii concomitente şi 2 cu câte 3 complicaţii asociate (ex: stenoză duodenală + stenoză coledociană, sau stenoză de unghi colic stâng + ascită pancreatică + tromboză de venă splenică etc).

Caracteristicile structurale şi funcţionale de pancreatită cronică severă prezente la eşantionul nostru la sfârşitul studiului sunt prezentate în tabelul VI, comparativ cu rezultatele publicate de Ammann şi Lankisch (17,18), iar ameliorarea persistentă a durerii şi numărul de decese în tabelul VII.

Decesele au survenit datorită afecţiunilor asociate (infarct miocardic=7, ciroză hepatică = 9, tuberculoză pulmonară = 4, brohno-pneumopatie cronică obstructivă cu cord pulmonar cronic = 4) produse de stilul de viaţă (alcoolism şi fumat) şi numai la 3 bolnavi datorită complicaţiilor ACP (malignizarea pancreatitei cronice = 3). Ciroza hepatică de etiologie etanolică a fost asociată la 12 bolnavi. Ea a debutat în medie cu 11 ani mai târziu decât ACP. Tuberculoza pulmonară s-a asociat la 8 bolnavi, toţi în stadiul avansat al ACP cu steatoree şi diabet zaharat secundar.

DISCUŢII

Eşantionul de bolnavi cu ACP studiat este format predominant din bărbaţi (92,6%), care prezintă debutul bolii la o vârstă tânără (medie = 35,7 ani). Procentul sexului masculin şi vârsta de debut sunt semnificativ diferite faţă de seriile publicate în Franţa (20), USA (17) şi studiul multinaţional (19) USA, Franţa, Elveţia, Germania, Suedia, Italia, dar asemănătoare cu rezultatele publicate pentru bolnavii din Brazilia (10), Mexic (21) şi Elveţia (18). Acest lucru ţine de obiceiurile de a consuma alcool (tipul, cantitatea, ritmul) ale fiecărei populaţii. Femeile (deşi egale în drepturi cu bărbaţii) par să consume mai puţin alcool în România, Elveţia, Brazilia şi Mexic.

Stilul de viaţă al bolnavilor din nord-vestul României cuprinde mai mulţi factori favorizanţi ai pancreatitei cronice: *consumul de alcool* începe la o vârstă tânără (17-21 ani), se consumă cantităţi mari de băuturi tari (89,9%), de preferinţă ţuica fabricată "în casă", la care se asociază *fumatul* (69,7%), în medie un pachet pe zi (obicei caracterisitc alcoolicilor) şi *dieta bogată în grăsimi* (72,7%) datorată obiceiului de a consuma slănină şi untură de porc (în loc de ulei). Caracteristică este afirmaţia unuia ditnre bolnavii incluşi în studiu care spune: "îmi place ţuica să fie cât de tare şi mâncarea cât de grasă".

Durerea. *Formele indolore* de ACP sunt puţine (5,05%), asemenea seriilor raportate în Elveţia (23) şi Germania (8), dar semnificativ mai puţine decât cele ale bolnavilor din Japonia (24) şi Mexic (21). Diferenţele se datoresc şi aici, mai probabil, obiceiurilor locale de a consuma alcool: tipul, cantitatea, ritmul.

Localizarea durerii a fost 95% în etajul abdominal superior, dar numai 39,4% a fost tipică, "în bară". Absenţa semnelor imagistice de pancreatită cronică în fazele precoce ale bolii, a dus la confundarea durerii cu cea ulceroasă sau cu colica biliară la 17 bolnavi, care au fost trataţi pentru aceste afecţiuni timp de mai mulţi ani. Pentru evitarea acestor situaţii, propunem ca bolnavii care au avut un episod de pancreatită acută etanolică documentată să fie urmăriţi periodic şi sfătuiţi să abandoneze toţi factorii de risc (alcool, fumat, dietă bogată în grăsimi), în scopul prevenirii apariţiei ACP.

Dacă indicaţia operatorie pentru *suspiciunea de malignitate* nu a prezentat diferenţe semnificative faţă de seriile publicate în ţările vestice, procentul de *operaţii pentru complicaţii şi durere* (refractară la tratamentul medical şi endoscopic) sunt total diferite (inversate). La populaţia studiată 82,8% sunt intervenţii chirurgicale pentru complicaţii (repetate la 29,8% din bolnavi). Dintre complicaţii, predomină episoadele acute severe suprapuse pancreatitei cronice, care au necesitat tratament chirurgical la 19 bolnavi, au dus la apariţia de pseudochisturi acute la 21 bolnavi şi abcese pancreatice la 15 bolnavi. Rezultă un total de 55 complicaţii datorate episoadelor acute. Cauza acestei evoluţii severe, cu multiple complicaţii care necesită intervenţii chirurgicale repetate este continuarea consumului de alcool (17,25) indiferent de evoluţia bolii, justificată de 89% din bolnavi prin afirmaţia că "alcoolul ameliorează durerea".

Evoluţia ACP a fost inexorabilă, spre modificări morfologice severe ale pancreasului (calcificări = 63,6%) şi insuficienţă pancreatică severă: diabet zaharat secundar (43,4%) şi steatoree (41,4%), procente similare cu cele raportate în literatură în ţările vestice (17,18). Această epuizare a pancreasului a produs însă şi ameliorarea persistentă a durerii la 66,6% din bolnavi.

Decesele s-au datorat în cea mai mare (89%) parte afecţiunilor asociate. rezultat al stilul de viaţă (alcoolo-tabagismul) şi agravate de prezenţa diabetului zaharat şi a steatoreei. Principalele cauze de deces au fost ciroza hepatică alcoolică (12,2%), bolile cardio-vasculare şi un număr relativ mare (n=4) de cazuri de tuberculoză pulmonară miliară, fapt care nu a mai fost raportat în literatură şi care se datorează frecvenţei crescute a TBC în ţara noastră.

CONCLUZII

Pancreatita cronică de etiologie alcoolică la bolnavii din nord-vestul României se caracterizează prin debut la vârste tinere şi printr-o evoluţie severă, cu multiple complicaţii care necesită intervenţii chirurgicale repetate. Principala cauză a acestei evoluţii severe, pare să fie stilul de viaţă (consumul de alcool, fumatul, dieta bogată în grăsimi) care nu este abandonat de majoritatea bolnavilor, indiferent de sfaturile medicale.

Mortalitatea de 27,2% după o perioadă de evoluţie medie de 15,6 ani este datorată în cea mai mare parte afecţiunilor produse de alcoolismul cronic şi tabagism, care sunt agravate de insuficienţa pancreatică exo- şi endocrină.

Rolul clinicianului în prevenirea evoluţiei severe a ACP constă în diagnosticul precoce, urmat de lupta continuă pentru abandonarea alcoolului şi a celorlalţi factori de risc. Întreruperea consumului de alcool pare să fie cel mai bun mijloc de a obţine o cât mai bună calitate şi cantitate a vieţii la aceşti bolnavi.

BIBLIOGRAFIE

1. Ammann RW, Mullhaupt B. Do the diagnostic criteria differ between alcoholic and nonalcoholic chronic pancreatitis? *J Gastroenterol* 2007; 42 (Suppl XVII): 118-126.
2. Mayerle Julia, Lerch MM. Is it necessary to distinguish between alcoholic and nonalcoholic chronic pancreatitis? *J Gastroenterol* 2007; 42 (Suppl XVII): 127-130.
3. Toskes PP. Alcohol consumption and chronic pancreatitis. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 241-242.

4. Gullo L. Alcohol and chronic pancreatitis: leading or secondary etiopathogenetic role? *JOP* 2005; 6 (1 Suppl.): 68-72.
5. Levy P. Natural history of alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterol Clin Biol* 2002; 26 (5 Suppl.): B114-123.
6. Cavallini G, Frulloni L, Pederzoli P et al. Long-term follow-up of patients with chronic pancreatitis in Italy. *Scand J Gastroenterol* 1998; 33: 880-889.
7. Ammann RW, Akovbiantz A, Largiader F, Schueler G. Course and outcome of chronic pancreatitis. Longitudinal study of a mixed medical-surgical series of 245 patients. *Gastroenterol* 1984; 86: 820-828.
8. Lankisch PG, Lohr-Happe A, Otto J, Creutzfeldt W. Natural course in chronic pancreatitis. Pain, exocrine and endocrine pancreatic insufficiency and prognosis of the disease. *Digestion* 1993; 54: 148-155.
9. Layer P, Yamamoto H, Kalthoff L, Clain JE, Bakken LJ, DiMagno EP. The different courses of early- and late-onset idiopathic and alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterol* 1994; 107: 1481-1487.
10. Dani R, Mott CB, Guarita DR, Nogueira CE. Epidemiology and etiology of chronic pancreatitis in Brazil: a tale of two cities. *Pancreas* 1990; 5: 474-478.
11. Grigorescu M, Lencu M. *Bolile cronice ale pancreasului.* Cluj-Napoca: Ed. Dacia; 1990.
12. Barbu ST. *Pancreatita cronică: tratamentul chirurgical.* Cluj-Napoca: Ed. Dacia, 2001.
13. Barbu ST, Cazacu M, Galasiu R. Analiza descriptiva a unui esantion de 104 bolnavi cu pancreatita cronica operati de colectivul Clinicii Chirurgicale IV Cluj-Napoca. *Acta Medica Transilvanica* 2001; 1 (1-2): 176-181.
14. Ammann RW. The natural history of alcoholic chronic pancreatitis. *Intern Med* 2001; 40: 368-375.
15. Ammann RW. A clinically based classification system for alcoholic chronic pancreatitis: summary of an international workshop on chronic pancreatitis. *Pancreas* 1997, 14 (3): 215-221.
16. Axon ATR, Classen M, Cotton PB, Cremer M, Freeny PC, Lees WR. Pancreatography in chronic pancreatitis: international definitions. *Gut* 1984, 25: 1107-1112.
17. Lankisch MR, Imoto M, Layer P, DiMagno EP. The effect of small amounts of alcohol on the clinical course or chronic pancreatitis. *Mayo Clin Proc* 2001; 76: 242-251.
18. Ammann RW, Muellhaupt B and Zurich Pancreatitis Study Group. The natural history of pain in alcoholic chronic pancreatitis. *Gastroenterol* 1999; 116: 1132-1140.
19. Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G, et al. Prognosis of chronic pancreatitis: an international multicenter study. International Pancreatitis Study Group. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 1467-1471.
20. Lévy P, Milan C, Pignon JP, Baetz A, Bernades P. Mortality factors associated with chronic pancreatitis. Unidimensional and multidimensional analysis of a medical-surgical series of 240 patients. *Gastroenterol* 1989; 96: 1165-1172.
21. Robles-Diaz G, Vargas F, Uscanga L, Fernandez-Del Castillo C. Chronic pancreatitis in Mexico city. *Pancreas* 1990; 5: 479-483.
22. Owyang C. Chronic pancreatitis. In: Yamada T, Alpers DH, Owyang C, Powell DW, Silverstein FE editors. *Textbook of Gastroenterology*. 3^{rd} ed. Lippincott-Raven 1999; 94: 2151-2177.
23. Ammann RW, Akovbiantz A, Largadier F, Schueler G. Course and outcome of chronic pancreatitis. *Gastroenterol* 1984; 82: 820-828.
24. Hayakawa T, Kondo T, Shibata T, Sugimoto Y, Kitagawa M. Chronic alcoholism and evolution of pain and prognosis in chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 33-38.
25. Toskes PP. Alcohol consumption and chronic pancreatitis. *Mayo Clin Proc* 2001; 76 (3): 241..

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

CHIRURGIE

ARTICOLE ORIGINALE

COLECISTECTOMIA LAPAROSCOPICĂ LA PACIENŢI CU CIROZĂ HEPATICĂ CLASA CHILD A ŞI COLECISTITĂ ACUTĂ LITIAZICĂ

D. Vasincu[1], Şt. Mihalache[1], Geanina Bogza[2]
Spitalul Clinic de Urgenţe "Sf. Ioan" Iaşi
1 Clinica de Chirurgie
2 C.M.I. Neamţ

LAPAROSCOPIC CHOLECYSTECTOMY IN PACIENTS WITH CHILD'S CLASS A CIRRHOSIS OF THE LIVER AND ACUTE CHOLECYSTITIS DUE TO CHOLELITHIASIS (Abstract): Cholecystectomy in cirrhotic patients has been reserved for patients with severe biliary disease, because of the high morbidity and mortality in cirrhotic patients undergoing this procedure. Laparoscopic cholecystectomy (LC) was originally contraindicated in cirrhotic patients because of the associated portal hypertension and coagulopathy. **Material and method**: This study examined the safety of LC in Child's class A patients and acute cholecystitis due to cholelithiasis in patients from "Sf. Ioan" Emergency Hospital Iaşi. The studied period was January 2001 - December 2005. Ten patients with cirrhosis had their gallbladder removed laparoscopically during that time period. All patients were Child's class A. **Results**: The average age was 62,5 (range, 56-68). The operative indication was acute cholecystitis. Three patients were previously diagnosed with cirrhosis, and 7 were diagnosed intraoperatively. None of the patients required a blood transfusion. No intraoperative or postoperative complications occurred. No deaths occurred. Postoperative stay was 5.8 days. These results compare favorably to other published studies from international literature. **Conclusion**: Based on our findings, we believe LC can be performed safely in patients with class A cirrhosis. **Key words**: CHOLECYSTECTOMY, CIRRHOSIS, LAPAROSCOPY

Colecistectomia laparoscopică (CL) a fost realizată prima dată în 1987 la Lyon - Franţa. În ţara noastră, prima colecistectomie laparoscopică a fost efectuată la Constanţa (1991). Primul articol cu această tematică a fost publicat în revista „Actualitatea Medicală" (Bucureşti) în 1993 (1). Institutul Naţional de Sănătate din S.U.A. recunoaşte CL ca fiind o intervenţie chirurgicală acceptabilă pentru afecţiunile veziculei biliare (VB) în 1993 (2). Când s-a introdus prima dată CL, performanţele acesteia au fost limitate de contraindicaţii relative şi absolute (3). Acestea au inclus colangita, hipertensiunea, tulburări de coagulare, obezitate morbidă şi intervenţii chirurgicale în antecedente. Prezenţa cirozei s-a considerat iniţial o contraindicaţie relativă, deoarece ciroza şi hipertensiunea portală cresc riscul de sângerare şi de apariţie a insuficienţei hepatice. Litiaza veziculară apare de două ori mai frecvent la cirotici decât în populaţia generală (4). În trecut, colecistectomia s-a realizat la cirotici, acceptând o morbiditate şi o mortalitate mai mari (5). Rezultatele colecistectomiei clasice au fost raportate ca fiind rezonabile la pacienţii cu ciroză hepatică clasa A sau B Child. Mortalitatea variază între 7-26%, iar morbiditatea între 5-25% (6).

Studiul de faţă se bazează pe experienţa dobândită în urma efectuării CL la pacienţii cirotici internaţi cu diagnosticul de colecistită acută litiazică şi examinează siguranţa şi fezabilitatea acestei intervenţii chirurgicale. Noi presupunem că este sigur să efectuăm CL la pacienţi cu ciroză hepatică incluşi în clasa Child A.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am realizat un studiu retrospectiv al pacienţilor diagnosticaţi cu ciroză hepatică şi colecistită acută litiazică, internaţi în Clinica Chirurgie Generală a Spitalului Clinic de Urgenţe „Sf. Ioan" Iaşi în perioada ianuarie 2001 - decembrie 2005, la care s-a practicat CL. Foile de observaţie au fost studiate privind tehnica chirurgicală, indicaţiile operatorii şi rezultatele. Gradul cirozei a fost evaluat utilizând clasificarea Child. S-a urmărit : momentul diagnosticării cirozei, dacă a fost preoperator sau intraoperator ; perioada de spitalizare postoperatorie ; testele funcţionale hepatice.

REZULTATE

În perioada de timp studiată (ianuarie 2001 - decembrie 2005) au fost operaţi 10 pacienţi cu ciroză hepatică (toţi au fost incluşi în clasa Child A) şi colecistită acută litiazică. Toţi pacienţii au fost operaţi prin CL, nu au fost necesare conversii.

Vârsta medie a pacienţilor a fost de fost 62,5 ani (între 56-68 ani), iar raportul femei : bărbaţi de 8 : 2. 5 pacienţi au avut o cantitate mică de ascită observată în timpul efectuării CL. Diagnosticul de ciroză a fost cunoscut preoperator la 3 pacienţi, iar 7 pacienţi au fost diagnosticaţi intraoperator. Cauza cirozei a putut să fie determinată la 4 pacienţi. Dintre aceştia, toţi 4 au avut ciroză alcoolică, iar unul a avut în plus hepatită cu virus C în antecedente. Dintre ceilalţi 6, 2 pacienţi au avut persoane diagnosticate cu ciroză în familie. La restul de 4 pacienţi nu s-a putut preciza cauza cirozei.

Testele de laborator s-au efectuat la internarea în clinică. Valorile medii ale bilirubinemiei totale au fost de 1,35 mg/dL (între 0,4 - 5,2 mg/dL), iar la cei diagnosticaţi preoperator cu ciroză, media a fost de 1,7 mg/dl. TGO a variat între 30 - 95 U/L (media de 54 U/L), iar TGP între 41 - 130 U/L (media de 61,3 U/L). Albuminemia medie a fost de 3,8 g/dL (între 2,9 - 4,2 g/dL).

Nici un pacient nu a avut nevoie de transfuzie sanguină. Nu au survenit decese. Nu au survenit complicaţii intraoperatorii sau postoperatorii. Perioada medie de spitalizare postoperatorie a fost de 5,8 zile (între 3 şi 10 zile).

DISCUŢII

Odată cu progresele realizate în tehnica şi în tehnologia laparoscopică, contraindicaţiile CL sunt reevaluate mereu. La pacienţii cu intervenţii chirurgicale în antecedente, prima alegere în caz de colecistită acută este CL. Există studii care recomandă efectuarea CL la femei gravide diagnosticate cu colecistită acută (7).

La pacienţii cu ciroză hepatică necunoscută preoperator, mortalitatea şi morbiditatea au fost mai mari când s-a efectuat colecistectomia clasică, decât la cei care nu au avut ciroză hepatică. Aceasta se datorează, printre altele, hipervascularizaţiei regiunii portale la cirotici, care duce la creşterea cantităţii de sânge pierdut. Din acest motiv, colecistectomia necesită o atenţie crescută în ceea ce priveşte hemostaza (8). Studiile publicate arată că la pacienţii cu ciroză hepatică şi colecistită acută litiazică, la care se practică CL, rezultatele sunt în general favorabile (9,10,11,12,13).

Studiul de faţă reflectă experienţa dobândită în cadrul clinicii noastre. Majoritatea pacienţilor au fost diagnosticaţi cu ciroză intraoperator. Nu s-a găsit ascită în cantitate mare. Unii autori recomandă totuşi lăsarea unui tub de dren pentru a permite ca vindecarea locurilor de inserţie a trocarelor să se vindece fără ca prin acestea să se scurgă lichid de ascită (14). La pacienţii studiaţi, s-a realizat CL fără mortalitate sau morbiditate crescute. În literatura internaţională, primul autor care a prezentat CL efectuată la pacienţi cu ciroză hepatică şi s-a pronunţat asupra indicaţiilor extinse ale acesteia a fost Yerdel în 1993 (tab. I).

TABELUL I

Studii publicate în literatura internaţională referitoare la pacienţi cu ciroză hepatică la care s-a realizat colecistectomia laparoscopică

Autor	An	Nr. Pacienţi	Clasa Child			Complicaţii	Ciroză preop.
			A	B	C		
Yerdel (9)	1993	7	6	1	0	0	5/7
D'Albuquerque (10)	1995	12	8	4	0	4/12	7/12
Lacy (12)	1995	11	7	3	1	0	-
Jan (13)	1997	21	18	3	0	1/21	-
Sleeman (15)	1998	25	16	9	0	8/25	-
Poggio (16)	1999	26	22	4	0	5/26	3/26
Friel (17)	2000	30	23	7	0	7/30	5/30
Eason (18)	2001	15	15	0	0	3/15	6/15

Acest studiu, la fel ca şi cele care au apărut în literatură până acum, arată că la pacienţii cu ciroză hepatică clasa Child A şi colecistită acută litiazică, CL este o metodă sigură şi ar trebui să fie intervenţia chirurgicală de ales. Rămâne ca pentru studii ulterioare să fie evaluată oportunitatea alegerii CL la pacienţi cu stadii mai avansate ale cirozei. În toate intervenţiile chirurgicale, inclusiv CL la pacienţi cu ciroză hepatică, trebuie urmate principiile de bază ale chirurgiei, identificarea anatomiei, disecţia cu meticulozitate şi hemostaza corectă.

CONCLUZII

Rezultatele sunt comparabile cu cele din alte studii din literatură şi putem afirma cu certitudine că CL poate fi efectuată fără probleme la pacienţi cu ciroză clasa A.

BIBLIOGRAFIE

1. Duca S. *Chirurgia laparoscopică.* ediţia a II-a. Cluj-Napoca : ed. Paralela 45, 2001, 131-187.
2. *** NIH. Consensus conference statement on gallstones and laparoscopic cholecystectomy. *Am J Surg* 1993 ; 165 : 390-398.
3. Soper N. Effect of nonbiliary problems on laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg* 1993 ; 165 : 522-526.
4. Bouchier I. Postmortem study of the frequency of gallstones in patients with cirrhosis of the liver. *Gut* 1969 ; 10 : 705-710.
5. Block SR. Cholecystectomy in patients with cirrhosis : a surgical challenge. *Arch Surg* 1985 ; 120 : 669-672.
6. Kogut K. Cholecystectomy in patients with mild cirrhosis. *Arch Surg* 1985 ; 120 : 1310-1311.
7. Gouldman JW. Laparoscopic cholecystectomy in pregnancy. *Am Surg* 1998 ; 64 : 93-98.
8. Hamid S. Outcome of biliary tract surgery in unknown cirrhotics : a case control study. *Ann R Coll Surg Engl* 1993 ; 75 : 434-436.
9. Yerdel MA. Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients : expanding indications. *Surg Laparosc Endosc* 1993 ; 3 : 180-183.
10. D'Albuquerque LAC. Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients. *Surg Laparosc Endosc* 1995 ; 5 : 272-276.
11. Yerdel MA. Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients : expanding indications. *Surg Laparosc Endosc* 1997 ; 7 : 483-486.
12. Lacy AM. Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients. *Surg Endoscopy* 1995 ; 9 : 407-408.

13. Jan YY. Laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients. *Hepato-Gastroenterol* 1997 ; 44 : 1584-1587.
14. Talamini MA. Controversies in laparoscopic cholecystectomy : contraindications, cholangiography, pregnancy and avoidance of complications. *Bailieres Clin Gastroenterol* 1993 ; 7 : 881-896.
15. Sleeman D, Namias N, Levi D, et al. A laparoscopic cholecystectomy in cirrhotic patients. *J Am Coll Surg* 1998 ; 187 : 400-403.
16. Poggio JL, Rowland CM, Gores GJ, Nagorney DM, Donohue JH. Comparison of laparoscopic and open cholecystectomy in patients. *J Gastrointest Surg* 1999 ; 3 : 286-291.
17. Friel CM, Stack J, Forse A, Babineau TJ. Laparoscopic cholecystectomy in patients with hepatic cirrhosis : a five-year experience with compensated cirrhosis and symptomatic gallstone disease. *Surg* 2000 ; 127 : 405-411A.
18. Eason GA, ReMine S, Bogard B et al. Laparoscopic cholecystectomy in patients with early cirrhosis. *Curr Surg* 2001 ; 58 : 312-315.

NOUTĂŢI

DETECTAREA CANCERULUI ORAL PRIN UTILIZAREA UNEI TEHNICI FOTODINAMICE

Pacienţii care au avut în antecedente cancer oral, prezintă un risc crescut de a face o nouă tumoră malignă, a cărei detectare este deseori dificilă şi frecvent întârziată de debutul insidios al leziunii. Descoperirea unei tehnici neinvazive, sensibile şi specifice pentru diagnosticul acestor leziuni în faza incipientă ar permite un tratament conservator adecvat. Detecţia fotodinamică reprezintă o tehnică neinvazivă de evaluare a fluorescenţei ţesuturilor, ce poate valorifica diferenţele de spectru fluorescent ale ţesutului tumoral. Utilizarea unei astfel de metode permite detectarea precoce a ţesutului canceros şi reducerea numărului de biopsii necesare, strict la situsurile relevante. O substanţă frecvent utilizată este acidul 5-aminolevulinic care este metabolizat selectiv în ţesutul tumoral formând protoporfirina IX, care reprezintă un agent fotosensibil (635nm). Autorii studiului au conceput un instrument spectroscopic compact, care induce şi măsoară fluorescenţa la nivelul mucoaselor cavităţii orale. Substanţa fotosensibilă se administrează local prin clătiri orale timp de 15 minute, iar înregistrarea se realizează după 75 de minute şi este analizată printr-un program computerizat conceput să recunoască forma spectrului fluorescent măsurat. Nivelul de fluorescenţă la pacienţii cu leziuni considerate posibil maligne a fost mai crescut decât la subiecţii sănătoşi iar analiza spectrului a demonstrat variaţii mai mari la grupul de studiu comparativ cu subiecţii de control precum şi diferenţe semnificative ale principalelor componente între cele două grupe. Unele înregistrări de la pacienţi au avut valori care s-au înscris în spectrul caracteristic grupului de control, fiind efectuate probabil în zone de ţesut sănătos sau mai puţin afectat. Rezultatele par promiţătoare, metoda utilizată selectând ţesutul patologic de cel sănătos fără să diferenţieze totuşi displazia de cancerul incipient. Specificitatea acestei tehnici de diagnostic trebuie confirmată prin studii ulterioare care să confirme dacă detecţia metaboliţilor fluorescenţi se datorează exclusiv cancerului sau poate fi consecinţa altor factori sistemici (O'Dwyer M, Day A, padgett M, Ogden GR, McLaren S, Goodman CR. Detection of mucosal abnormalities in patients with oral cancer using a photodynamic technique : A pilot study. *Br J Oral Maxillofacial Surg* 2008 ; 46 (1) : 6-10).

Gianina Iovan

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

LEZIUNILE INTRAOPERATORII DE CĂI BILIARE

C. Burcoveanu, Iulia Munteanu, S. Ştefan, C. Bulat, S. Pădureanu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica a III^{-a} Chirurgicală
Centrul de Cercetare în Chirurgia Oncologica şi Training în Chirurgia Generala

THERAPEUTIC PARTICULARITIES IN BILE DUCTS INTRAOPERATIVE LESIONS (Abstract) : Statistically speaking, the intraoperative lesions of common bile duct are rare clinical cases, but they have a high gravity potential. Our study was made on a lot of 11 operated pacients during 1995-2007 in our Clinic and it shows the tactical and technical approach used in solving these complications. The study also shows the high level of difficulty of these cases, as immediate recognition of this type of intraoperative lesions is needed. The successful evolution of these cases depends on how quickly the lesions are found and solved. **Key words**: COLECISTECTOMY, INTRAOPERATIVE LESION.

Leziunile intraoperatorii ale căilor biliare se produc în majoritatea cazurilor în cursul colecistectomiei. Incidenţa generală a acestor leziuni este de 0,4-0,8% (1) ; în colecistectomia clasică incidenţa variază între 0,1% şi 0,2% (2), iar în colecistectomia laparoscopică între 0,2% şi 0,8% (0,5% pe studii europene multicentrice). Alte date menţionează leziuni majore în 0,55%, leziuni minore şi scurgeri biliare tranzitorii în 0,3-0,85% (3). Pe lotul de pacienţi studiat incidenţa este de 0,2%.

MATERIAL ŞI METODĂ

Au fost luaţi, în studiu retrospectiv, 11 pacienţi - 9 femei şi 2 bărbaţi, cu vârste cuprinse între 38 şi 65 de ani, în perioada 1995-2007, la care s-a practicat iniţial colecistectomie pentru colecistită acută litiazică ; la 4 pacienţi s-a practicat colecistectomie clasică şi în 7 cazuri colecistectomie laparoscopică.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Diagnosticul de leziune intraoperatorie a căii biliare în 2 cazuri a fost precizat intraoperator şi în 9 cazuri postoperator.

Cauzele principale ale acestor accidente intraoperatorii pot fi sistematizate astfel : pediculita de la nivelul căilor biliare indusă de inflamaţie sau de procese tumorale, variante anatomice bilio-vasculare, tehnica neadecvată. În lotul studiat factorii generatori de patologie iatrogena sunt structuraţi altfel :

- boala : toţi pacienţii sunt diagnosticaţi cu colecistită acută ;
- anatomia : anomaliile căilor biliare se întâlnesc la 10-15% din cazuri ; pe cazuistica noastră la 2 pacienţi am constatat deschiderea hepatocoledocului în segmentul al treilea al duodenului şi un pacient a prezentat o anomalie complexă a confluentului biliar superior, cu prezenţa unui canal aberant prin disecţia insuficientă a confluentului cistico-hepatic.

Se sistematizează 3 tipuri de leziuni :

- plăgi : cele mai frecvente fiind situate la nivelul hepatocoledocului şi se datorează în special unei disecţii dificile datorată

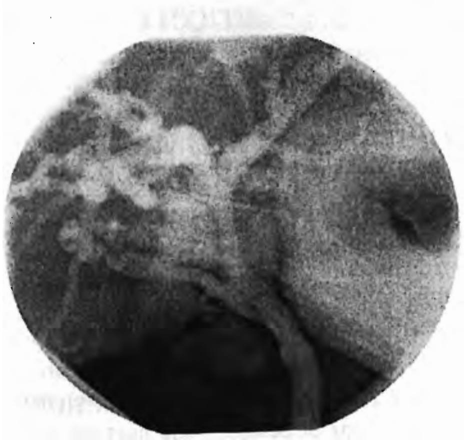


Fig. 1. Colangio-RMN postoperatorie la un pacient cu plagă de canal aberant

inflamaţiei locale, fie unei variante anatomice de deschidere a căilor biliare; cele mai frecvente se întalnesc la nivelul canalului hepatic comun;

- stenoze: prin ligatura sau cliparea totală sau parţială a hepatocoledocului, consecinţa unei identificări insuficiente a canalului cistic;

- secţiunea parţială sau totală a hepatocoledocului (4).

Leziunile intraoperatorii de căi biliare la pacienţii studiaţi au fost:

a) plăgi - 6 cazuri:

- plagă laterală sub convergenţă (1 cm) + stenoză în aval - 1 caz;
- plagă laterală hepatic comun (cauter)- 1 caz;
- plagă laterală coledoc - 2 cazuri;
- plagă canal aberant (anomalie) -1 caz (fig. 1);
- secţiune coledoc + plagă hepatic comun (cauter)- 1 caz .

b) stenoze - 5 cazuri, sistematizate după clasificarea Bismuth (5):

- Bismuth I - 4 cazuri:
  - ligatură laterală cistic + cale biliară principală - 1 caz;
  - ligatură circumferenţială coledoc - 2 cazuri;
  - ligatură hepatic + secţiune: 1 caz.
- Bismuth II - 1 caz:

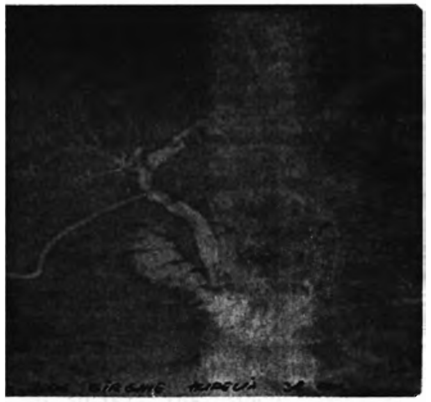


Fig. 2. Colangiografie post-operatorie la un pacient cu stenoză de cale biliară

- ligatură coledoc supraduodenal + fistulă canalicul biliar în patul colecistului 1 caz (fig. 2) .

Consecinţele acestor accidente intraoperatorii sunt grave pentru pacient, iar diagnosticate tardiv pot conduce la deces (6); în cazul ligaturii se instalează icterul obstructiv asociat cu angiocolita, iar în plăgi coleperitoneul cu evoluţie spre fistulă biliară.

Tratamentul acestor leziuni necesită experienţă şi o tehnică reparatorie de soluţionare adecvată cazului.

Pentru cazuistica noastră s-au aplicat următoarele tehnici:

- la cele 5 cazuri cu stenoze:
  - anastomoză hepatico-jejunală T-L, în 3 cazuri;
  - sutura hepatocoledocului T-T şi drenaj Kehr: 1 caz (fig. 3 şi 4);
  - extragerea clipului, drenaj Kehr şi sutura canaliculului hepatic lezat: 1caz;
- la cele 6 cazuri cu plăgi: —
  - anastomoză hepatico-jejunală T-L sub convergenţă: 1 caz;
  - sutura T-T a hepatocoledocului şi drenaj transcistic: 2 cazuri;
  - sutura T-T a hepatocoledocului şi drenaj Kehr: 2 cazuri;
  - sutura T-T: 1 caz.

Mortalitatea postoperatorie a fost de 0,9% (un caz a decedat prin sepsis sever).

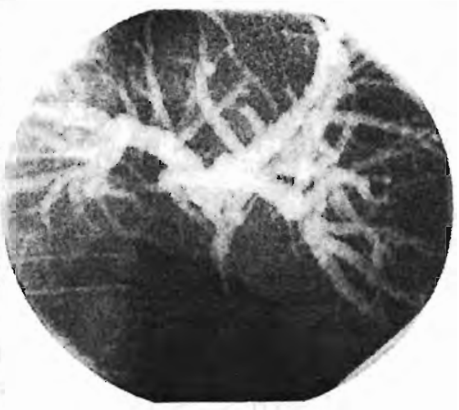


Fig. 3. Colangio-RMN post-operatorie la un pacient cu stenoză de cale biliară

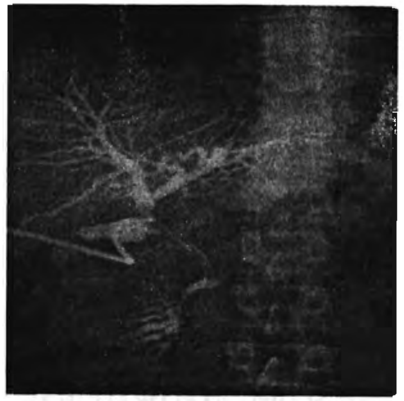


Fig. 4. Colangiografie post-operatorie la un pacient cu stenoză de cale biliară

CONCLUZII

Leziunile intraoperatorii ale căilor biliare sunt mult mai uşor de prevenit decât de tratat. Momentul ideal pentru repararea unei leziuni de cale biliară este plasat în timpul actului operator iniţial şi necesită recunoaşterea accidentului. Abordul tardiv al leziunilor de căi biliare prezintă un grad înalt de dificultate cu rezultate variabile.

Succesul depinde de calificarea echipei în chirurgia hepato-biliară, condiţiile fiziopatologice loco-regionale (inflamaţie, scleroză), generale (sepsis), precum şi de starea ficatului.

Repararea leziunilor iatrogene depistate intra sau postoperator necesită o indicaţie adecvată stabilită cu maximă obiectivitate şi o execuţie impecabilă, orice imperfecţiune sau complicaţie putând antrena prognosticul vital. De aceea, actul operator reparator va fi efectuat într-un centru specializat care poate oferi: explorare completă, material atraumatic adecvat, echipa chirurgicală specializată în chirurgia căilor biliare.

BIBIOGRAFIE

1. *** *Schwartz Principles of Surgery*. Bright Ed, 2005, 1212.
2. Gigot J-F. *Chirurgie des voies biliaires*. Paris: Ed. Masson, 2005, 21-33.
3. Henry ML, Carey LC. Complications of cholecystectomy. *Surg Clin N Am* 1983; 63 (6): 1191-1204.
4. Peters JH, Gibbons GD, Innes JT et al. Complications of laparoscopic cholecystectomy. *Surgery* 1991; 110 (4): 769-777.
5. Bismuth H. Postoperative strictures of the bile duct. In: Blumgart LH editor. *The Billiary Tract*. Churchill Livingstone,1982; 209-218.
6. Juvara I, Setlacec D, Rădulescu D, Gavrilescu S. *Chirurgia căilor biliare extrahepatice*. vol II. Bucureşti: Ed. Medicală, 1998, 272-289.
7. Weiss CA, Payene WD, Sielaff TD. Management of an occluded wallstent for a benign billiary stricture: a case report. *Hepato-Gastroenterol* 2004; 51: 378-380.
8. Ojima H, Yamauchi H, Yamaki E et al. Management of bile leakage caused by clip displacement from cystic duct stumps. *Hepato-Gastroenterol* 2007; 73 (54): 28-31.
9. Deziel DJ, Milikan KW, Economou SG, Doolas A, Ko ST, Airan MC. Complications of laparoscopic cholecystectomy: a national survey of 4,292 hospitals and an analysis of 77,604 cases. *Am J Surg* 1993; 165 (1): 9-14.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

EXPLORAREA CAELIOSCOPICĂ ÎN POLITRAUMATISMELE CU COMPONENTĂ NEUROCHIRURGICALĂ

I. Köszeghi[1], N. Dobrin[2], N. Ianovici[2]
1. Spitalul Judeţean de Urgenţă Piatra Neamţ
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2. Clinica de Neurochirurgie

CAELIOSCOPIC EXPLORATION IN POLYTRAUMATISMS WITH NEURALSURGICAL COMPONENT (Abstract) : Caelioscopic surgery has been introduced in the medical practice for only two decades and imposed as a method due to its multiple advantages, expanding its application to therapy and exploration. If, initially the traumatic pathology of the abdomen has been used, this paper proposes the expansion of this method in polytraumatisms with neuralsurgical components, and not only. **Material and method** : This paper presents a study made on 67 cases with the Emergency Hospital of Piatra Neamt, of which 22 patients (33%) after the caelioscopic exploration requested surgical intervention. **Results** : In 26 cases we have limited to caelioscopic exploration and eventually, peritoneal drainage, and 19 cases have only been monitored. Thus it is covered a segment of pathology to which paraclinical exploration, respectively abdominal echography and CT, does not provide a certain diagnosis in post-traumatic abdominal lesions. This method is relatively easy for a general surgeon and can be successfully applied in neural-surgical lesion associations, within a good cooperation of guard teams and much better within a polytraumatic centre. This is how morbidity and even mortality can be significantly reduces. **Key-words** : ABDOMINAL TRAUMATISM, POLYTRAUMATISM, NEURAL-SURGICAL INJURY

Odată cu introducerea caelioscopiei în practica medicală, prin avantajele create, (suferinţă minimă, evoluţie postoperatorie spectaculoasă), aceasta şi-a extins utilizarea.

Utilizată iniţial în cadrul patologiei traumatice abdominale, există tendinţa de a fi folosită şi în politraumatisme, cum de fapt se susţine în lucrarea prezentă.

Un pacient cu traumatism abdominal, care are constantele vitale stabile, trece printr-o serie de explorări paraclinice : echografia abdominală, tomografie computerizată, eventual puncţie-lavaj diagnostică. Dacă se depistează un hemoperitoneu iar scăderea hematocritului nu este semnificativă, tratamentul în general este controversat, existând două alternative : **laparatomia** sau b) **tratamentul conservator**, dar cu observaţie clinică atentă.

Unii autori sunt în favoarea tratamentului conservator, doar că se impun controalele echografice şi CT. Acestea au câteva limite care îndeamnă la prudenţă şi la luarea unor măsuri suplimentare (1).

Astfel :

- echografia abdominală efectuată în urgenţă are o sensibilitate de 73% şi o specificitate de 93%, rămânând un segment destul de mare de incertitudine diagnostică.
- CT are o sensibilitate şi specificitate ridicată, dar este incapabilă de a depista leziunile diafragmatice, intestinale, pancreatice imediat după traumatism, având un procent de eroare şi în leziunile viscerelor parenchimatoase. Examenul CT, încă de la începutul folosirii sale, a creat în prima etapă mult entuziasm şi încredere. Deosebit de apreciat în leziunile craniene, toracice, unele leziuni abdominale şi folosit ca atare, după Burch, este mai puţin exact în leziunile organelor cavitare (2).

Laparoscopia ar putea fi cea de-a treia alternativă în diagnosticul şi tratamentul traumatismelor abdominale ce prezintă hemoperitoneu cu stabilitate hemodinamică.

Încă din 1976, Gazzamga foloseşte o metodă laparoscopică în cazul a 37 pacienţi cu traumatisme abdominale. Numai în cazul a 13 pacienţi s-a recurs la conversie în laparotomie.

În 1991 Berci foloseşte minilaparoscopia în cazul a 150 pacienţi cu traumatisme abdominale folosind un laparoscop de 4 mm. Numai 38 pacienţi au fost laparotomizaţi.

În 1993 Smith, prin laparoscopie exploratorie, realizează numai 9 laparotomii din 34 pacienţi cu traumatisme abdominale.

În tot mai multe centre de traumatologie se foloseşte laparoscopia ca metodă de diagnostic şi tratament, deoarece avantajele remarcabile ale acestei metode se bucură de o apreciere tot mai largă.

Graber afirmă că, dacă o operaţie se poate face cu mai puţină durere, cu o incizie mai mică, cu cicatrice mai mică, cu spitalizare mai scurtă, cu preţ mai scăzut - este evident că metoda este mai bună decât cea clasică şi că şansele ei de extindere sunt reale.

Însă este total greşit să se creadă că metoda laparoscopică este mai facilă. Ea deţine o serie de particularităţi care nu pot fi ignorate şi a căror cunoaştere nu poate fi depăşită prin improvizaţii.

Evaluarea politraumatismelor în unităţile sanitare cu profil de urgenţă se face în echipă. În cazul dirijării pacienţilor cu leziuni neurologice spre un eşalon superior sau în altă secţie, chirurgul generalist trebuie să ofere garanţia excluderii problemelor majore toracoabdominale.

Această reticenţă amplificată ades de modificările simptomatice, m-a făcut să gândesc o metodă complementară, care să ofere mai mare securitate pacientului traumatizat.

Tehnica explorării caelioscopice a fost pusă la punct de către Henning (3).

Dacă explorarea abdomenului este destul de bine statuată (tab. I), în politraumatisme este imposibil de standardizat modul de abord al abdomenului traumatic prin laparoscopie. Există însă câteva principii de bază care se impun a fi respectate :

- Se preferă anestezia generală, dar şi anestezia locală poate fi folosită cu succes în cazurile care o impun ;
- Se vor fixa sonda gastrică şi cea urinară ;
- Presiunea de insuflare nu va depăşi 10 mmHg, pentru a evita riscurile unei embolii gazoase în prezenţa unei eventuale breşe vasculare (cu toate că în literatură se citează doar trei cazuri de astfel de accidente) ;
- Poziţia trocarelor, a monitorului TV şi a operatorului poate diferi de la o intervenţie la alta, dar nu se vor pierde din vedere câteva criterii :
- Monitorul TV, presupusa leziune intraabdominală şi laparoscopul trebuie să se situeze în puncte succesive ale aceleiaşi axe ;
- Trocarul scopic se introduce la distanţă de locul de acţiune a traumatismului abdominal ;
- Trocarele de lucru se vor plasa pe un arc de cerc în al cărui centru se află presupusa leziune.

Pentru a asigura o mai bună expunere, chirurgul poate face apel la poziţii declive, proclive sau de alt tip (tab. I).

În faţa unor plăgi prin arme albe sau prin arme de foc, laparoscopia este recomandată mai ales în cazurile în care caracterul

TABELUL I

Schemă de explorare laparoscopică a cavităţii abdominale

Poziţia	Poziţia pacientului	1. Poziţia examinatorului şi 2. Direcţia examinării	Sectorul inspectat
0	Orizontal	1. la stânga pacientului 2. explorare în toate direcţiile	- privire generală - marele epiploon şi peritoneul - intestin subţire şi gros - vase colaterale, ascită - aderenţe
I	Rotat 20ş spre stânga Capul în sus 20ş	1. la stânga pacientului 2. explorarea hemiabdomenului şi a abdomenului superior drept	- marginea anterioară şi suprafaţa lobului hepatic drept - vezicula biliară - ligamentul falciform şi rotund - faţa inferioară a lobului drept - configuraţia rinichiului drept - duoden - transperitoneal capul pancreatic
II	Rotat 20ş spre dreapta Capul în sus 20ş	1. la stânga pacientului 2. după trecerea pe sub ligamentul rotund, se explorează hemiabdomenul superior stâng	- marginea anterioară şi suprafaţa lobului stâng hepatic - ligamentul falciform - peretele anterior al stomacului
III	Rotat 30ş - 45ş spre dreapta Capul în sus 30ş	1. la dreapta pacientului 2. se explorează abdomenul superior stâng	- suprafaţa lobului stâng hepatic - ligamentul triunghiular stâng - splina - peretele gastric anterior - diafragm, hiatus esofagian
IV	Rotat 15ş - 40ş spre dreapta sau stânga Capul în jos 20ş - 30ş	1. la dreapta sau stânga pacientului 2. se explorează abdomenul inferior	- colon ascendent, cec, apendice - intestin subţire - regiunea inghinală - colon sigmoid - organe genitale interne feminine - configuraţia retroperitoneală a ureterelor şi vezicii urinare

penetrant al plăgii nu este evident. Astfel se poate confirma integritatea peritoneului parietal şi absenţa leziunilor intraabdominale. Dacă se descoperă o perforaţie a peritoneului, explorarea cavităţii peritoneale trebuie să fie foarte minuţioasă în căutarea unei plăgi vasculare sau a unei perforaţii intestinale. În faţa unei plăgi toracice joase, cu posibilă atingere diafragmatică, trocarul scopic nu se introduce la nivelul ombilicului ci la jumătatea distanţei xifoombilicale, astfel se poate explora perfect etajul supramezocolic, regiunea hiatală şi diafragmul, recunoscându-se cu uşurinţă leziunile.

Laparoscopia este de asemenea utilă şi în unele traumatisme abdominale închise la care poate fi tentat un tratament conservator. Este vorba în special de contuzii izolate ale ficatului, cu hematoame subcapsulare şi de rupturile ficatului. Laparoscopia permite toaleta cavităţii peritoneale, evacuarea completă a hemoperitoneului şi efectuarea unui bilanţ exact al leziunilor hepatice pentru a aprecia evoluţia lor ulterioară. Permite, de asemenea, depistarea leziunilor asociate. Se poate astfel decide mai bine oportunitatea unui tratament conservator sau chirurgical (4,5).

MATERIAL ŞI METODE

Aplicarea metodei propuse se extinde pe un interval de cinci ani şi cuprinde un

total de 67 de cazuri de politraumatisme cu componentă abdominală şi neurochirurgicală (fig. 1). Celelalte tipuri de leziuni asociate, respectiv: toraco-pulmonare, ale oaselor, sau leziuni ale nervilor periferici au fost dirijate în secţiile de profil (chirurgie toracică, ortopedie, chirurgie plastică şi reparatorie).

Aceste cazuri au fost rezolvate în Spitalul Judeţean de Urgenţă Piatra Neamţ într-un interval de 5 ani. Din totalul de 67 de cazuri, în urma evaluării clinice şi paraclinice s-a decis explorarea caelioscopică în 48 de cazuri (72%). Din acestea la 22 de cazuri (33%), în urma evaluării leziunilor s-a impus laparatomia. La 3 cazuri s-a efectuat electrohemostază şi aplicare de tachocomb (două leziuni hepatice şi una splenică), cu evoluţie ulterioară bună, iar la 26 de cazuri, după explorare caelioscopică s-a efectuat drenaj peritoneal.

În marea majoritate a cazurilor, cele la care intervenţia s-a limitat la explorare, prezentau hematoame retroperitoneale, după fractură de bazin sau coloană vertebrală lombară, cu transvazare de sânge sau serozitate (cantităţi variabile) în peritoneu. Scăderea hemoglobinei, prezenţa de lichid în cavitatea peritoneală, precum şi hipotensiunea posttraumatică corectată şi menţinută ulterior, fără a exclude cu desăvârşire leziunea viscerală abdominală, "ne-au îndemnat" să efectuăm explorarea.

Am adoptat atitudinea de abstinenţă la 19 cazuri, la care examenul radiografic evidenţiază fractura de bazin sau vertebre lombare; examenul echografic sau după caz CT, sesizează lichid în peritoneu fără a se constata leziuni viscerale, iar constantele hematologice, pulsul, TA urmărite în dinamică au fost relativ constante, astfel că ne-am limitat la monotorizare. Aici se includ şi traumatismele majore ale peretelui abdominal, care la internare nu au conturat simptomatologia unui abdomen acut (fig. 2).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Ca asocieri lezionale în cazul politraumatismelor cu componentă neurochirurgicală şi abdominală se observă (fig. 3), incidenţa mare a hematoamelor retroperitoneale şi traumatismelor majore ale peretelui ab-

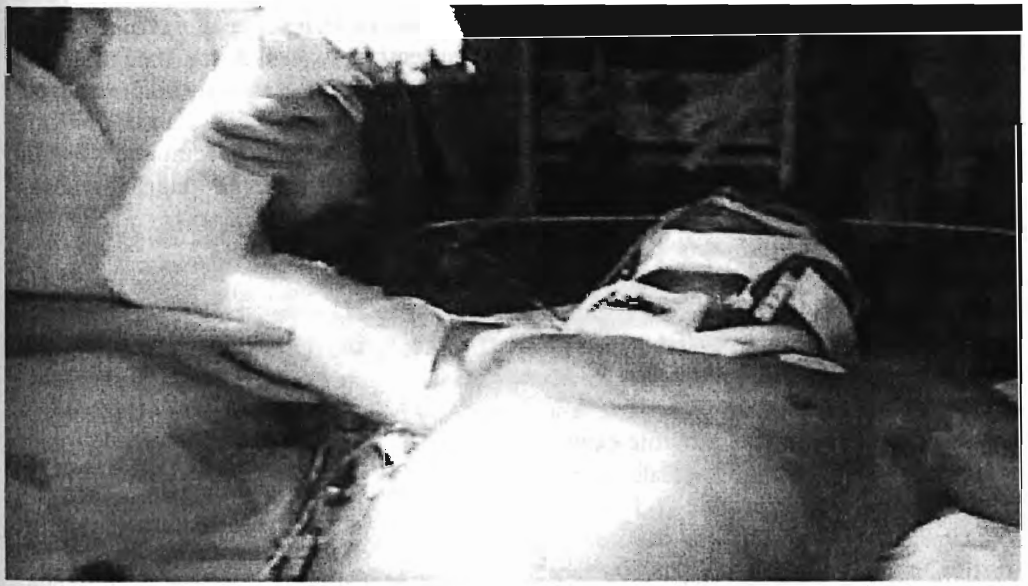


Fig. 1. Politraumatism cu componentă cranio-cerebrală; toraco-pulmonară; abdominală (leziune hepatică) şi fractură de antebraţ drept

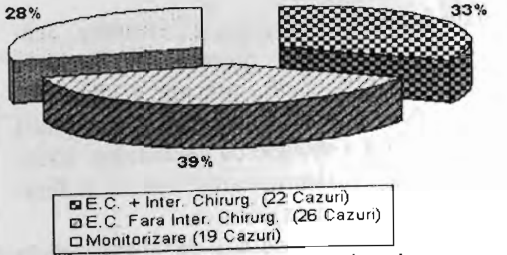


Fig. 2. Rezolvarea politraumatismelor cu componentă NC + abdominală

dominal 28 de cazuri (43%), primele date de fracturile de bazin şi vertebre lombare. Iar leziunile abdominale care au necesitat laparatomia sunt prezentate în fig. 4.

După datele din literatură, se observă din ce în ce mai mult, tendinţa spre atitudine conservatoare în leziunile hepatice şi splenice posttraumatice. Iniţierea unui tratament nonoperator ar putea fi o opţiune logică în circumstanţe particulare. Dificultatea majoră în practica medicală rezidă în selectarea pentru tratamentul nonoperator al grupului de pacienţi a căror leziune traumatică abdominală nu mai sângerează, sau are tendinţă la hemostază spontană, ceea ce presupune o monotorizare eficientă, dotare tehnică pe măsură şi cheltuieli de spitalizare ridicate (1,6,7,8,10).

Dacă înaintea erei caelioscopice, laparatomia diagnostică în situaţiile incerte era acceptată şi indicată, chiar dacă în multe cazuri rămânea "albă", explorarea caelioscopică în traumatisme este cu atât mai mult justificată (4).

Datele recente din literatura de specialitate subliniază că 2/3 din traumatismele splenice şi între 70–90% din cei cu traumatisme ale ficatului, care sunt stabili hemodinamic şi pot face CT, nu necesită intervenţie chirurgicală (1). De asemenea, s-a demonstrat că 67% din laparatomiile exploratorii pentru traumatisme abdominale închise se dovedesc a fi nonterapeutice (1,13).

Dacă o leziune splenică în majoritatea cazurilor se finaliza, nu demult, cu splenectomie şi eventual cu autotransplant de fragment splenic, acum se insistă pe conservarea acesteia sau măcar a unei părţi din ea, având în vedere rolul deosebit de important al acestui organ, mai ales la copii. Este cunoscută scăderea rezistenţei la infecţii prin scăderea Ig.M după splenectomie, a opsoninelor şi prin absenţa *tufsinei* = hormon splenic care creşte capacitatea fagocitară a leucocitelor (4).

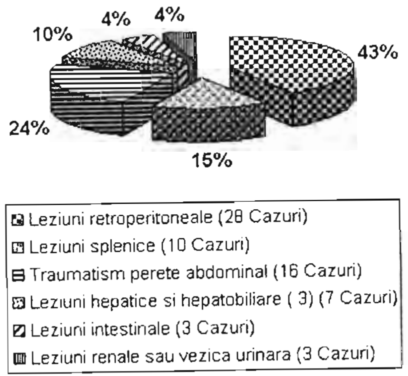


Fig. 3. Total leziuni abdominale asociate leziunilor neurochirurgicale

În statistica prezentată, rupturile de splină au avut cele mai multe sancţiuni chirurgicale reprezentând 10 cazuri (15%), de fiecare dată practicâdu-se şi transplantul de fragment splenic într-un buzunar epiploic. Dacă nu am fi conştientizat factorul de gravitate prin asocierea lezională neurochirurgicală, probabil că imboldul spre conservare era mai evident.

Dintre metodele conservatoare (7), în traumatismele splenice de grad mic, amintim splenorafia, hemostaza prin electrocoagulare sau produse topice (tachocomb); rezecţii splenice segmentare sau hemisplenectomie, proteză sintetică perisplenică etc. (12,13).

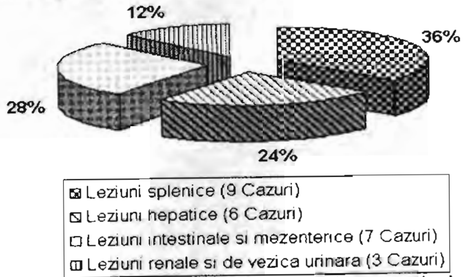


Fig. 4. Pacienţi politraumatizaţi cu asocieri lezionale NC + abdominale la care s-a efectuat explorarea caelioscopică şi s-a impus intervenţia chirurgicală

În politraumatismele cu componentă neurochirurgicală un rol deosebit îl are momentul deciziei exploratorii. Priorităţile trebuie foarte bine stabilite. Cu toate că hemoragiile interne, în cazul unui pacient stabil hemodinamic, pot avea evoluţie rapidă spre agravare, să nu uităm că hematomul extradural posttrauamatic este de asemenea o mare urgenţă chirurgicală (14).

Tendinţa actuală în marile centre de politraumă este ca în acelaşi timp operator să se rezolve cât mai multe din leziunile apărute după un traumatism. Este însă foarte important stabilirea unui diagnostic corect şi complet (12).

CONCLUZII

Explorarea caelioscopică în politraumatismele cu componentă neurochirurgicală, este o metodă utilă, ce poate aduce date reale în stabilirea inventarului lezional.

Explorarea caelioscopică poate stabili apoi atitudinea nonoperatorie, sau poate decide intervenţia chirurgicală.

Metoda propusă poate completa segmentul de incertitudine diagnostică după evaluarea clinică şi paraclinică. Atât examenul echografic cât şi CT abdominal au un procent de eroare în leziunile intestinale, diafragmatice, cât şi pancreatice, imediat după traumatism.

Explorarea caelioscopică presupune o bună colaborare între echipele de gardă şi funcţionarea acestora într-un centru de politraumă.

În situaţii extreme, explorarea caelioscopică se poate efectua şi cu anestezie locală, creându-se acea cameră de lucru „virtuală" prin tracţiunea peretelui abdominal.

BIBLIOGRAFIE

1. Lupaşcu CR., Canaschi G, Lupaşcu C. Factori de eşec în tratamentul conservator al traumatismelor închise ale ficatului şi splinei. *Jurnalul de Chirurgie* ; 1 (1) : .
2. Malangoni MA, Fallat JIC. Evaluation of splenic injury by computed tomography and impact on treatment. *Ann Surg* 1990 ; 211 : 592.
3. Duca S. *Chirurgia laparoscopică*. Cluj Napoca : Ed. Dacia, 1997, 111-200.
4. Dragomirescu C, Iorgulescu R. *Chirurgie generală*. Bucureşti : Ed. Teora, 2003.
5. Târcoveanu E. *Elemente de chirurgie laparoscopică*. vol. I. Iaşi : Ed. Dosoftei, 1996.
6. Lucas EC. Splenic trauma choice of management. *Ann Surg* 1991 ; 213 : 98.
7. Pickhardt B, Moore EE, Moore FA et al. Operative splenic salvage in adults : A decade perspective. *J Trauma* 1989 ; 29 : 1386.
8. Jalovec ML, Boe SB, Wyffels LP. The advantages of early operation with splenoraphy versus nonoperative management for blunt splenic trauma patient. *Ann Surg* 1993 ; 59 : 698.
9. Pachter ML, Knudsom MM, Esrig B, Ross S. Status of nonoperative management of blunt hepatic injuries in 1995 : A multicenter experience with 404 patients. *J Trauma* 1996 ; 40 : 30.
10. Archer LP, Roger FB, Shacford SR. Selective nonoperative management of blunt hepatic trauma is the trauma is the treatment of choice for hemodynamically stable patients. *Ann Surg* 1995 ; 221 : 744.
11. Finger Hut A, Oberlin P, Cotte JL. Splenic salvage using an absorbable MESH : Feasibility, reability and safety. *Br J Surg* 1992 ; 79 : 325.
12. Moore EE. Trauma system, trauma center, and trauma surgeons : Opportunity in managed competition. *J Trauma* 1995 ; 39 : 1.
13. Bunea Jivanescu C, Funariu G, Ciuce C et al. Atitudinea conservativă în leziunile traumatice de splină. *Chirurgia* 2006 ; 101 (5) : 483-489.
14. Steler GM, Windemuth R, Green SM. A comparison of five simplified scale for the prediction of traumatic brain injuries outcomes. *Acad Emerg Med* 2006 ; 13 (9) : 963-973.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

TRATAMENTUL CHIRURGICAL AL CHISTULUI HIDATIC PULMONAR

C. Mitrofan[1], A. Aldea[1], Elena Mitrofan[2], M. Bosânceanu[1], L. Farmatu[1], Iulia Jitaru[3], Cristina Moldoveanu[4], G. Iosep[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Clinica de Chirurgie Toracică
2 Clinica de Pneumologie
Spitalul Clinic de Pneumologie Iaşi
3 Serviciul de Anestezie - Terapie intensivă
4 Serviciul de Radiologie

SURGICAL TREATMENT OF LUNG HYDATID CYSTS (Abstract): Lungs represent the second most common localization of hydatidosis, after liver. The current treatment for pulmonary hydatid cyst (PHC) is complete excision with maximum preservation of lung tissue. The authors emphasize the particularities of diagnosis and surgical treatment of PHC. **Material and method**: A clinical retrospective study was carried out on a series of 247 cases with PHC, admitted in the Thoracic Surgery Department of Pneumology Hospital of Iaşi between 1999 and 2007. Data regarding the clinical picture, imagistical findings and surgical treatment were collected from the medical files and reviewed. **Results**: There were 162 men and 85 women, aged between 11 and 78 years. Of these, 134 patients had uncomplicated cysts and 113 had complicated forms. The cysts were located in the right lung in 115 cases (46.5%), the left lung in 98 cases (39.5%) and bilaterally in 34 cases (14%). Liver cysts were associated in 28 cases (11.3%) cases. The surgical procedures employed were: Dor in 118 (47.5%) cases, Posadas in 64 (26%) cases, Geroulanos in 5 cases and ideal cystectomy in 14 cases. Pulmonary resection was used in 46 cases (18.5%), including 16 wedge resections, 27 lobectomies and 3 pneumonectomies. Medical parasiticide (Albendazole, 800 mg per day) was used postoperatively. The outcome was fatal in one patient (0.41%), mainly due to associated pathology. In our series, the overall incidence of complications was 7.7%, these consisting of: anaphyfilaxis (3 cases), hemothorax (2 cases), pneumothorax (2 cases), prolonged air leak in 5 cases (including a bronchial stump insufficiency) and atelectasis (5 cases). **Conclusion**: Surgery is the mainstay of the treatment of PHC and the operative techniques must be adapted to each different case.
Key words: PULMONARY HYDATIDOSIS, DIAGNOSIS, SURGERY, RESECTIONS

Chistul hidatic sau echinococoza este o boală parazitară cunoscută încă de pe vremea lui Hipocrate şi este determinată de dezvoltarea tumorală veziculară a larvei *Taenia echinoccocus granulosus*, parazit din clasa cestodelor cu existenţa parazitară dublă. Pentru prima dată termenul de chist hidatic a fost utilizat de Rudolphi în 1808.

Boala este endemică în ţările mari crescătoare de ovine şi caprine: Australia, Noua Zeelandă, America de Sud, în nordul Africii (Algeria, Maroc, Tunisia) şi în Peninsula Balcanică. În ţara noastră incidenţa este de 5 cazuri la 100000 locuitori. În România, o cazuistică importantă este prezentată de chirurgi de mare valoare, printre care amintim pe Severeanu, Thoma Ionescu, Iacobovici, Hortolomei, Buţureanu, Juvara, Cărpinişan, Făgărăşanu, Chipail, Setlacec, Oancea, Coman, Horvat (1).

Boala hidatică se transmite pe cale digestivă, prin alimente infestate cu ouă de *Taenia echinococus*, la om întâlnindu-se accidental, în diferite organe şi ţesuturi. Principala localizare a chistului hidatic este reprezentată de ficat în proporţie de 50-60%, a doua localizare fiind reprezentată de plămân în procent de 30-40%, putându-se apoi localiza practic în orice regiune a organismului.

MATERIAL ŞI METODĂ

Am efectuat un studiu retrospectiv pe 247 de pacienţi operaţi în Clinica de Chirurgie Toracică a Spitalului Clinic de Pneumologie Iaşi, în ultimii 9 ani, între ianuarie 1999 şi decembrie 2007.

Distribuţia pe sexe pune în evidenţă o predominenţă a sexului masculin, respectiv 162 de bărbaţi (65,5%) faţă de 85 de femei (34,5%).

Vârsta pacienţilor a fost cuprinsă între 11 şi 78 de ani, cu o medie de 29,4 ani.

În ceea ce priveşte distribuţia pe grupe de vârstă, au predominat cazurile în decada 21-30 de ani (59 de cazuri - 24%).

De remarcat că majoritatea pacienţilor provin din mediul rural (161 de cazuri-65%), care au venit în contact cu animalele de casă, ceea ce dovedeşte că boala hidatică este o zoonoză.

În funcţie de faza sa evolutivă, am întâlnit în 134 de cazuri (54,5%) chist hidatic necomplicat, iar în 113 de cazuri (44,5%), chist hidatic complicat, din care, în 91 de cazuri, chistul hidatic a fost rupt în bronşie iar în 22 cazuri chistul hidatic a fost rupt în pleură. Se observă un număr mare de cazuri de chist hidatic complicat, ceea ce denotă un grad de educaţie sanitară scăzut şi o diagnosticare tardivă a cazurilor, abia în momentul când a apărut complicaţia.

În marea majoritate a cazurilor, simptomatologia a fost nespecifică, subliniind că, în 36 de cazuri (14,5%), pacienţii au fost complet asimptomatici, descoperirea lor fiind practic întâmplătoare. Pentru chistele hidatice necomplicate, simptomatologia a fost de cele mai multe ori frustă, pe când pentru cele complicate, simptomatologia a fost evidentă, fiind reprezentată de tuse cu expectoraţie seromucoasă, uneori mucopurulentă, spute hemoptoice, durere toracică şi uneori chiar vomică hidatică.

Metodele de diagnosticare au fost cele clasice, în primul rând radiografia toracică de faţă şi profil care au evidenţiat diagnosticul în 212 cazuri (86%). De mare ajutor ne-a fost ecografia transtoracică care a reuşit să stabilească diagnosticul de certitudine în 56 de cazuri (22,5%), mai ales în chisturile hidatice periferice şi de dimensiuni semnificative, precum şi în chistele hidatice rupte în pleură. Investigaţiile de laborator au relevat inconstant creşterea eozinofiliei până la valori de 10-15%. La un număr mic de cazuri s-au efectuat IDR Cassoni sau reacţia ELISA, datorită sensibilităţii şi specificităţii lor scăzute. Examenul fibrobronhoscopic este indicat doar în formele complicate de chist hidatic, când diagnosticul radiologic nu este sugestiv (aspect pseudotumoral sau supurativ). La chistele hidatice necomplicate, examenul fibrobronhoscopic nu este indicat, datorită riscului de efracţie a chistului în timpul manevrelor efectuate. Din păcate, examenul computertomografic s-a efectuat într-un număr relativ mic de cazuri - 48 (19,5%), condiţiile socio-economice nepermiţându-ne efectuarea acestui examen la un număr mai mare de pacienţi. În 8 cazuri, diagnosticul a fost o surpriză intraoperatorie, examenele paraclinice efectuate neputând elucida diagnosticul.

Distribuţia în funcţie de numărul localizărilor a fost: chist hidatic unic în 187 de cazuri, dublu unilateral în 21 cazuri, chist hidatic bilateral în 34 cazuri, iar bilateral şi chist hidatic triplu în 5 cazuri.

Chistul hidatic a fost localizat în 115 cazuri (46,5%) în plămânul drept, în 98 de cazuri (39,5%) în plămânul stâng iar în 34 de cazuri (14%) a fost bilateral.

Asocierea chist hidatic pulmonar- chist hidatic hepatic a fost întâlnită în 28 de cazuri.

În ceea ce priveşte de calea de abord, în 130 de cazuri (52,5%) s-a efectuat toracotomie anterolaterală, în 88 de cazuri (35,5%) s-a efectuat toracotomie axilară iar în 29 de cazuri (12%) s-a efectuat toracotomie posterolaterală.

Tehnicile chirurgicale utilizate pot fi grupate în funcţie de modalitatea de tratare a hidatidei cât şi de rezolvarea cavităţii restante. Există două mari categorii de intervenţii chirurgicale în chistul hidatic pulmonar - radicale şi conservatoare. Preferăm rezolvarea hidatidei prin procedeul de puncţie a chistului, inactivare cu alcool 98^0, evacuare rapidă pe ac gros a conţinutului parazitar, urmată de pneumotomie şi extragerea membranei proligere cu pensa "en coeur". În ceea ce priveşte rezolvarea cavităţii restante, în 118 de cazuri (54%), am efectuat procedeul Dor, în 64 de cazuri (26%) procedeul Posadas - Cărpinişan, iar în 5 cazuri am practicat procedeul Geroulanos. În 14 cazuri s-a efectuat chistectomie ideală, extrăgându-se un chist hidatic intact, fără puncţionarea prealabilă a acestuia.

În cadrul procedeelor chirurgicale radicale s-au efectuat 46 de rezectii pulmonare (18,5%), respectiv 16 rezecţii atipice, 5 lobectomiii superioare stângi, 4 lobectomii inferioare stângi, 4 lobectomiii superioare drepte, 9 lobectomiii inferioare drepte, 5 lobectomii medii, 2 pneumonectomii stângi şi o pneumonectomie dreaptă (tab. I).

TABELUL I

Intervenţii chirurgicale

Tipuri intervenţii	Procedee	Număr
Intervenţii conservatoare	Procedeu Dor	118
	Procedeu Posadas	64
	Procedeu Geroulanos	5
	Chistectomie ideală	14
Intervenţii radicale	Rezecţii atipice	16
	Lobectomii	27
	Pneumonectomii	3

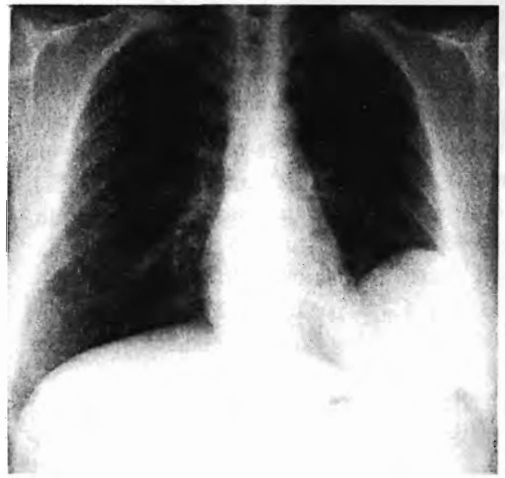


Fig. 1. Radiografia pulmonară

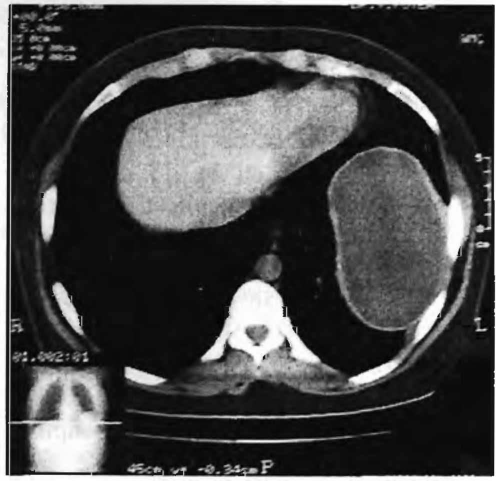


Fig. 2. Examen computer tomograf.

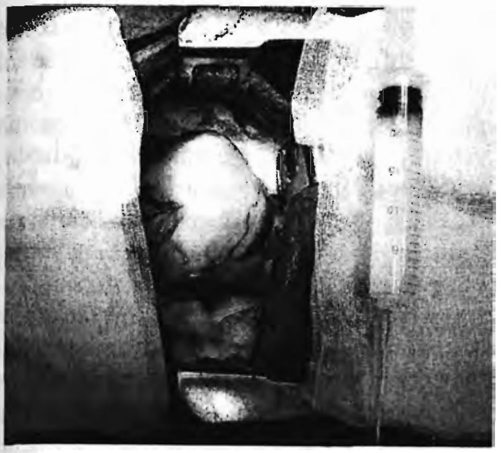


Fig. 3. Chist hidatic LIS. Aspect intraoperator.

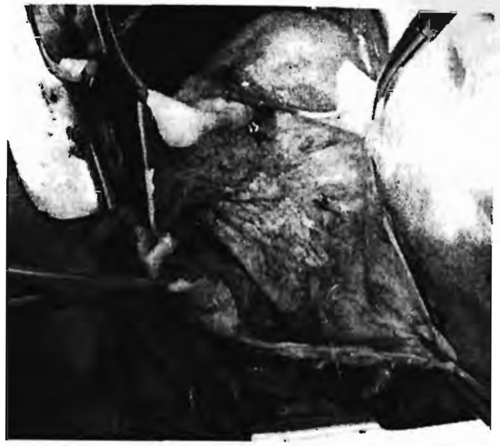


Fig. 4. Aspect cavitate perichistică dupa evacuarea chistului

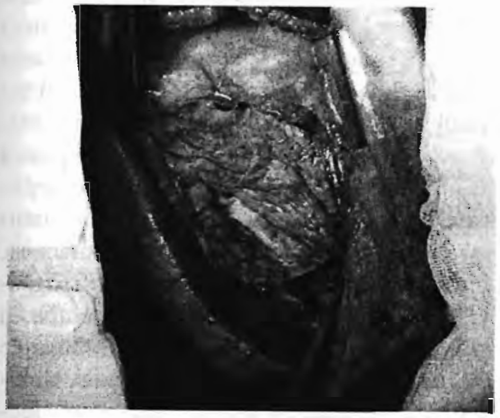


Fig. 5. Cura chistului hidatic procedeu Posadas

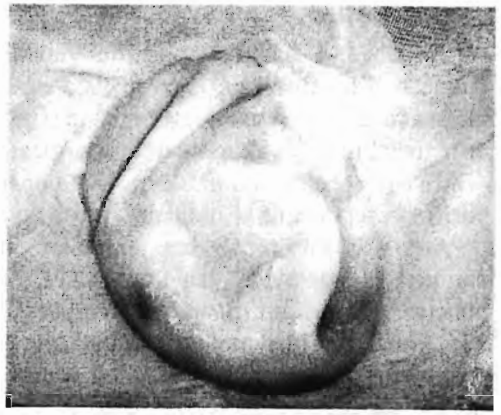


Fig. 6. Membrană hidatică

Prezentăm un caz clinic al unei paciente de 27 ani cu chist hidatic pulmonar de lob inferior stâng, diagnosticat radiologic şi computertomografic (fig. 1, 2), rezolvat chirurgical prin procedeul Posadas (fig. 3, 4, 5, 6).

REZULTATE

Rezultatele imediate au fost favorabile la majoritatea bolnavilor, fiind apreciate după evoluţia clinico-radiologică şi a funcţiei ventilatorii pulmonare. Radiologic, postoperator s-a observat dispariţia cavităţii perichistice reziduale şi reexpansiunea completă a parenchimului pulmonar.

Incidentele şi accidentele introperatorii au fost rare, menţionând : 2 cazuri de efracţie a chistului în cavitatea pleurală ce au necesitat lavaj abundent cu apă oxigenată şi 3 cazuri de şoc anafilactic intraoperator rezolvate de medicul anestezist prin terapie adecvată. Morbiditatea postoperatorie a constat în : două cazuri de hematom pleural la care s-a reintervenit pentru controlul hemostazei şi evacuare, 4 cazuri de pierderi aeriene prelungite, 2 cazuri de pneumotorax postoperator ce au necesitat drenaj pleural, atelectazie postoperatorie in 5 cazuri la care s-au efectuat fibrobronhoaspiraţii, o fistulă de bont bronşic după o pneumonectomie stângă. S-a înregistrat o singur deces la un pacient de 73 de ani cu patologie asociată importantă, operat pentru chist hidatic pulmonar bilateral complicat cu hemoptizie.

Ca tratament adjuvant, am utilizat Albendazol - 800mg/zi, în 3 cure de 28 de zile cu pauză de 14 zile între ele, pentru prevenirea eventualelor recidive şi diseminări secundare. Albendazolul poate fi utilizat în cazurile când tratamentul chirurgical este contraindicat sau în hidatidoza multiplă diseminată.

DISCUŢII

Tratamentul actual al chistului hidatic pulmonar este chirurgical, cu excizia completă a chistului şi cu prezervare maximă de parenchim (2). Procedeele chirurgicale pentru tratarea chistului hidatic pulmonar pot fi conservatoare şi radicale.

Am preferat rezolvarea hidatidei în majoritatea cazurilor prin procedeul de puncţie al chistului, inactivare cu alcool 98^0, urmată de pneumotomie şi extragerea membranei proligere cu pensa “en coeur”. În 14 cazuri, s-a practicat chistectomie ideală, cu extragerea intactă a hidatidei.

În ceea ce priveşte rezolvarea cavităţii restante, procedeele utilizate au fost alese în funcţie de caracteristicile anatomo-patologice şi topografice ale chistului. Cel mai frecvent am folosit desfiinţarea cavităţii perichistice prin capitonaj, prin burse succesive supraetajate din profunzime spre suprafaţă (procedeu Dor) în 118 cazuri (54%). Procedeul Posadas-Carpinişan a fost efectuat în 64 de cazuri (26%). Constă în excizia marginilor perichistului până la limita cu parenchimul pulmonar sănătos şi lăsarea cavităţii restante, astfel lărgită liberă în cavitatea pleurală, care la rândul ei este drenată aspirativ, astfel încât pulmonul să se expansioneze cât mai repede, iar suprafaţa aproape plată a perichistului rămas să facă simfiză cu pleura parietală. Procedeul Geroulanos, care presupune drenajul concomitent al cavităţii perichistice cu un tub subţire şi al cavităţii pleurale, drenaj dublu, a fost utilizat în 5 cazuri. Chistectomia ideală, cu extragerea intactă a hidatidei am folosit-o în 14 cazuri de chiste hidatice situate periferic, bine exteriorizate, de dimensiuni relativ mici. Evacuarea chistului prin puncţie, urmată de inactivare şi extragerea membranei hidatice este considerat un procedeu mai sigur decât chistectomia ideală iar diseminarea bolii este mult mai rar întâlnită (3).

Chistectomia urmată de capitonaj este tratamentul de elecţie, rezecţia pulmonară fiind necesară când ţesutul pulmonar este distrus prin mărimea chistului sau când ţesutul pulmonar perichistic este supurat (4). Procedeele radicale de rezecţie pulmonară le-am practicat în chistele hidatice complicate, supurate, cu piosscleroza parenchimului pulmonar. Sunt indicate de asemenea, în chistele hidatice mari, care practic depăşesc 50% din volumul lobului respectiv, în chistul hidatic al lobului mediu, în chistele cu fistule bronşice numeroase şi mari, supuraţii pulmonare cu piososcleroză. Am efectuat 46 de rezectii pulmonare (18,5%), incluzând 16 rezecţii atipice (wedge- resection), 27 lobectomii (5 lobectomiii superioare stângi, 4 lobectomii inferioare stângi, 4 lobectomiii superioare drepte, 9 lobectomiii inferioare drepte şi 5 lobectomii medii) şi 3 pneumonectomii (2 pneumonectomii stângi şi o pneumonectomie dreaptă). Într-un studiu pe 1619 cazuri, Thameur raportează efectuarea de rezecţii pulmonare în 14,1 % din cazuri (5), iar Dogan pe o statistică de 1055 de cazuri, raportează o rată a rezecţiei pulmonare de 9,5 % (6). Şi în seria noastră se observă o rată destul de mare de rezecţii pulmonare, justificată de faptul că pacienţii au venit într-un stadiu avansat al bolii, cu forme complicate de chist hidatic pulmonar. În cazul chistului hidatic bilateral, 7 cazuri s-au rezolvat prin toracotomii succesive în aceeaşi şedinţă operatorie iar în 27 de cazuri de chist hidatic bilateral s-a intervenit prin toracotomii succesive în şedinţe operatorii seriate, în general la interval de 3 săptămâni. Toracotomie succesivă bilaterală în aceeaşi şedinţă operatorie am efectuat la pacienţi tineri, cu o stare generală foarte bună. În chistul hidatic pulmonar bilateral se poate efectua şi sternotomia mediană, cu rezolvarea ambelor chisturi într-o singură şedinţă operatorie. În 28 de cazuri am întâlnit asocierea chist hidatic pulmonar - chist hidatic hepatic. În 5 cazuri, când localizarea pulmonară a fost pe dreapta şi chistul hidatic hepatic a fost situat în domul hepatic, s-au rezolvat ambele în aceeaşi şedinţă operatorie, practicându-se frenotomie dreaptă. În 4 cazuri s-au practicat incizii separate, toracotomie şi laparotomie în aceeaşi şedinţă operatorie iar în 19 cazuri s-au efectuat toracotomie şi laparotomie la distanţă, în şedinţe operatorii separate. În cazul asocierii chist hidatic pulmonar - chist hidatic hepatic, ambele necomplicate, prima intervenţie este indicat a se face cea toracică, datorită riscului efracţiei chistului hidatic pulmonar în timpul intervenţiei abdominale. În literatură, morbiditatea chirurgiei pentru chist hidatic este raportată între 0 - 13% iar mortalitatea între 0 - 5% (5-7). De remarcat că, în seria noastră, mortalitatea a fost de 0,41%.

Hidatidoza toracică rămâne şi astăzi o afecţiune destul de severă prin frecvenţa cazurilor, gravitatea complicaţiilor şi prin posibilitatea de localizare în aproape toate organele corpului omenesc. În absenţa unui tratament specific (chimioterapic sau seroimunologic), tratamentul chirurgical are indicaţie absolută dar nu mai puţin importantă este profilaxia, diagnosticarea precoce prin investigaţii biologice şi radiologice complexe precum şi instituirea tratamentului înaintea apariţiei complicaţiilor.

CONCLUZII

1. Chistul hidatic pulmonar evoluează mult timp asimptomatic sau cu simptome nespecifice.

2. Diagnosticul precoce este foarte important ţinând cont de evoluţia şi prognosticul acestei boli.

3. Indicaţia operatorie este absolută, tehnica operatorie este individualizată fiecărui caz în parte, în funcţie de caracteristicile chistului hidatic.

4. Tratamentul medical antiparazitar (Albendazol) este indicat postoperator.

5. Rezecţia pulmonară este o metodă de rezervă în tratamentul chirurgical al chistului hidatic pulmonar.

BIBLIOGRAFIE

1. Horvat T, Cordos I, Nistor C et al. Consideraţii generale asupra chistelor hidatice cu localizare toracică. *Jurnalul de Chirurgie Toracică* 1997 ; 2 (2) : 137-141.
2. Dakak M, Genc O, Gurkok S, Gozubuyuk A, Balkanli K. Surgical treatment for pulmonary hydatidosis (a review 422 cases). *J R Coll Surg Edinburg* 2002 ; 47 (5) : 689-692.
3. Burgos R, Varela A, Castedo E et al. Pulmonary hydatidosis : surgical treatment and follow-up of 240 cases. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999 ; 16 (6) : 628-634 ; discussion 634-635.
4. Gashi M, Beqiri SB, Guguli M, Recica X, Ahmedi E. Our experiences in surgical treatment of thoracic echinococcosis during the period 1977-1986. *Eur J Cardiothorac Surg* 1988 ; 2 (6) : 425-429.
5. Thameur H, Chenik S, Abdelmoulah S et al. A review of 1619 cases. *Rev Pneumol Clin* 2000 ; 56 (1) : 7-15.
6. Dogan R, Yuksel M, Cetin G et al. Surgical treatment of hydatid cysts of the lung : report on 1055 patients. *Thorax* 1989 ; 44 (3) : 192-199.
7. Qian ZX. Thoracic hydatid cysts : a report of 842 cases treated over a thirty-year period. *Ann Thorac Surg* 1988 ; 46 (3) : 342-346.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

FORME PARTICULARE DE ABCES HEPATIC

E. Târcoveanu[1], A. Vasilescu[1], R. Moldovanu[1], N. Vlad[1], V. Rusu[2], C. Stanciu[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica I Chirurgie "I. Tănăsescu - Vl. Buţureanu"
Centrul de cercetare în chirurgie generală clasică şi laparoscopică
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Laboratorul de radioizotopi
3 Institutul de Gastroenterologie şi Hepatologie Iaşi

UNUSUAL FORMS OF LIVER ABSCESSES (Abstract): Liver abscess is a rare disease. In this paper we present five unusual cases of liver absceses. These cases represents 5.68% from all patients with liver abscesses treated in the First Surgical Clinic Iaşi, from 1977 to 2007. The ethiology of the abscesses was different: intrahepatic biliary duct migration of *Ascaris lumbricoides*, migration of a foreign body (toothpick) from stomach into the liver, infected hydatid cyst with a large biliary leak and cholangitis and, residual cavities after surgical treatment of hepatic hydatid cyst associated with foreign bodies. Another case was a patient with a very large, multilocular liver abscess (2000 mL) with biliary ethiology. In all cases a surgical drainage was performed. In the cases with hydatid cysts and biliary leakage, ERCP procedures were performed. The postoperative course was uneventful. **Conclusions**: Surgical treatment remains a valuable option in the treatment of pyogenic hepatic abscesses especially in unusual form. **Key words**: PYOGENIC HEPATIC ABSCESES, SURGICAL TREATMENT

Abcesele hepatice sunt colecţii purulente dezvoltate în parenchimul hepatic (1) care se clasifică în piogene (determinate de germeni microbieni) şi parazitare (determinate de protozoare). În ţările dezvoltate, abcesele piogene reprezintă trei sferturi din abcesele hepatice (2,3). În timp, s-a schimbat spectrul etiologic, s-a perfecţionat diagnosticul, s-a diversificat tratamentul şi s-a îmbunătăţit evoluţia (4). Constatăm creşterea incidenţei abceselor piogene de cauză biliară şi chiar criptogenetică, datorită utilizării excesive a antibioterapiei înaintea internării în serviciul chirurgical (5,6) Cu toate progresele înregistrate, morbiditatea (30%) şi chiar mortalitatea postoperatorie (5%) se menţine ridicată (7). Tratamentul chirurgical clasic rămâne în continuare o opţiune inevitabilă în tratarea unor abcese hepatice (forme particulare, eşecul drenajului percutan, patologie abdominală concomitentă cauzatoare a bolii, diagnostic incert, abcese gigante, abcese multiloculare, abcese hepatice rupte, complicate cu sepsis sever) deşi drenajul prin puncţie percutană eco- sau CT ghidată are tot mai mulţi susţinători.

PREZENTAREA CAZURILOR

În perioada 1977-2007 în Clinica I Chirurgie a Spitalului „Sf. Spiridon" Iaşi au fost trataţi 88 pacienţi cu abcese hepatice piogene. Dintre acestea, 5 cazuri au fost particulare prin etiologie, problemele de diagnostic sau tratament. Considerăm instructivă prezentarea lor:

Obs. 1. Bolnava C.M., în vârstă de 52 ani, se internează în urgenţă, în 1980, pentru astenie, adinamie, scădere ponderală, dureri în hipocondrul drept, febră, icter. Debutul a fost insidios în urmă cu 6 luni, cu astenie, inapetenţă, stare subfebrilă. Accentuarea fenomenelor şi apariţia icterului obligă bolnava să se interneze în Spitalul Paşcani, de unde este transferată în clinica noastră cu suspiciunea de metastaze hepatice de origine neprecizată. La internare, bolnava denutrită, cu stare generală alterată şi oligurie, prezintă febră, tegumente icterice, dureri în hipocondrul drept, unde schiţează apărare musculară, hepatomegalie dură, dureroasă, neregulată. Explorările biologice evidenţiază leucocitoză (GA=14000/mmc), eozinofilie (E=15%), VSH accelerat (112/h), anemie (Hb=10,2 g/dL, Ht=30%), creşterea fosfatazei alcaline (FA=900 UI/mL), hiperbilirubinemie (BT=7,93 mg/dL, BD=6,05 mg/dL). După o scurtă pregătire preoperatorie se intervine chirurgical prin laparotomie mediană şi se constată un ficat mărit de volum, de consistenţă dură, cu formaţiuni albicioase, cu diametru de 2-3 cm, în ambii lobi, colecist mărit de volum, cale biliară principală dilatată, cu proces de pediculită, lichid gălbui, în cantitate mică subhepatic. Nu se găseşte nicio tumoră primitivă abdominală. Biopsia dintr-una din formaţiunile pseudotumorale hepatică extrage puroi şi doi ascarizi vii. Se deschid încă 8 asemenea formaţiuni de pe suprafaţa ficatului evacuându-se abcesele colangitice şi încă 11 ascarizi. Se practică coledocotomie cu extragerea altor 5 ascarizi vii; se realizează colecistectomia, lavaj coledocian şi drenaj biliar extern cu tub Kehr. Evoluţie postoperatorie prelungită, dar favorabilă după antibioterapie şi tratament antihelmintic. Controlată după un an, bolnava prezintă câştig ponderal, ficat de dimensiuni normale cu 2 mici imagini hipofixatoare scintigrafic în lobul drept.

Obs. 2 Bolnavul S.I., în vârstă de 69 ani, a fost transferat de la Clinica Gastroenterologică (FO 13523), în 14.VI.1996 pentru dureri în hipocondrul drept şi epigastru, inapetenţă, scădere ponderală (10 kg în 3 saptămâni), tuse seacă, dispnee, polakiurie. Din antecedente reţinem o cardiopatie ischemică cronică nedureroasă, hemibloc anterior stâng, pielonefrită cronică cu insuficienţă renală cronică stadiul II. Examenul local evidenţiază abdomen suplu, mobil cu respiraţia, sensibil la palpare în hipocondrul drept şi epigastru, unde se schiţează apărare musculară, lob stâng hepatic palpabil la 6 cm sub rebord, splină nepalpabilă. Examenul clinic general arată un bolnav febril cu tegumente şi mucoase palide, murmur vezicular înăsprit, zgomote cardiace aritmice. Examenele de laborator evidenţiază: Ht=29%, Hb=8,8 g/dL, GA=18600/mmc, VSH=111 mm/h, IP=87%, uree=11 mg/dL, creatinină=4,2 mg/dL, imunofluorescenţă pentru hidatidoză absentă. Radiografia toracică arată scleroemfizem, cord cu arcul inferior stâng alungit, aortă derulată, nodul calcificat subclavicular drept. EKG evidenţiază un hemibloc anterior stâng. Ecografia abdominală arată ficat mărit de volum cu hiperreflectivitate difuză, structură moderat neomogenă; la nivelul lobului stâng hepatic se găseşte o formaţiune expansivă de 107x82 mm, cu ecostructură mixtă, imprecis delimitată cu multiple zone anecogene centrale, colecist alitiazic. Se intervine chirurgical prin laparotomie mediană supraombilicală şi se găseşte lobul stâng hepatic mărit de volum, aderent la faţa anterioară a corpului gastric. Se izolează câmpul operator şi se începe liza aderenţelor, ocazie cu care apare puroi cremos, gălbui, dintr-un abces hepatic perforat acoperit. În centrul abcesului se găseşte o aşchie de lemn (scobitoare) de 8 cm care a perforat peretele gastric şi a intrat în lobul stâng hepatic. Se extrage corpul străin şi se suturează stomacul cu 2 fire separate. Se evacuează cavitatea abcesului hepatic (diametru 4 cm), se spală cu ser betadinat şi se drenează cu două tuburi cavitatea abcesului şi spaţiul subhepatic. Evoluţia postoperatorie a fost favorabilă. Se externează a 13-a zi postoperator. Controlat după un an nu prezintă acuze.

Obs. 3. Pacient B.I., 31 ani, muncitor zootehnist, consumator cronic de alcool a fost internat în urgenţă în 25.VI.2003 cu icter sclero-tegumentar ; stare generală gravă ; febră (38,2°C), frisoane, astenie fizică. Debutul a fost insidios în urmă cu 2 luni cu dureri în hipocondrul drept. De 30 zile apare un icter progresiv însoţit de prurit, scaune acolice şi urini hipercrome. La examenul local se constată la nivelul hemiabdomenului drept, limitarea mişcărilor respiratorii, deformarea hipocondrului drept, hepatomegalie la 3 cm sub rebord, regulată, consistenţă fermă, dureroasă la palpare şi o formaţiune ovoidală de cca 10 cm diametru, subhepatică, dureroasă spontan şi la palpare. La examenul clinic general se constată : tahipnee (FR=26/min) ; tahicardie (FC=100/min) ; TA=100/60 mmHg ; oligurie (diureză<50 mL/oră). Examenul de laborator evidenţiază : Hb=5,5 mg/dL, Ht=14,8%, Leucocite=16650/mmc, IQ=incoagulabil, BT=8,35 mg/dL, BD=6,96 mg/dL, TGO=77 UI/L, TGP=82 UI/L, FA=1052 UI/L, VSH=40 mm/h. Ecografia abdominală arată un ficat cu structură granulară mărit de volum (LDH=220 mm), colecist hidropic (145x75 mm) ; în segmentul IV, formaţiune transonică de 100x70 mm ; coledoc de 30mm, cu material hidatic în interior (fig. 1).

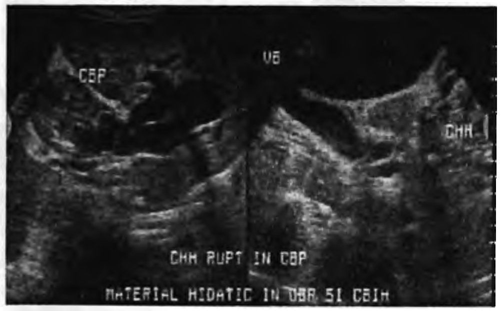


Fig. 1. Ecografie hepatică. În segmentul IV, formaţiune transonică de 100 x 70 mm ; coledoc de 30 mm, cu material hidatic

S-a efectuat colangiografie retrogradă endoscopică şi sfincterotomie cu evacuare de puroi şi material hidatic (membrană proligeră) din calea biliară principală (CBP) (fig. 2). După o pregătire preoperatorie scurtă şi energică se intervine chirurgical în urgenţă pentru abces hepatic (chist hidatic supurat), angiocolită icterouremigenă supurată şi se practică inactivarea şi drenajul chistului hidatic hepatic supurat, perichistectomie parţială, drenajul cavităţii restante, colecistectomie, coledocotomie cu evacuarea CBP de material hidatic, drenaj biliar extern cu tub Kehr (fig. 3). Postoperator constantele hematologice, biochimice şi de coagulare se ameliorează, a 2-a zi se reia tranzitului intestinal şi alimentaţia. Colangiografia pe tubul Kehr efectuată în a 12-a zi constată căi biliare libere cu diametru în scădere, pasaj oddian prezent şi o cavitate reziduală de 3-4 cm având comunicare largă cu CBP (fig. 4). Tubul Kehr se extrage în ziua 14 postoperator, iar pacientul este externat vindecat în ziua 16.

Obs. 4. Pacientul A.G., 47 ani, fumător, consumator cronic de alcool (cca 100 mL alcool/zi) se internează pentru febră (40°C), frisoane, dureri în hipocondrul drept, stare generală alterată, scădere ponderală (6 Kg/1 lună), icter sclerotegumentar, astenie fizică. Debutul este insidios, în urmă cu 2 luni, prin astenie, icter sclerotegumentar, scădere ponderală, febră, scaune melenice. Se internează într-un serviciu de medicină internă şi după EDS şi ecografie abdominală, este diagnosticat cu ulcer prepiloric hemoragic şi hepatom multicentric. Apariţia febrei de tip septic determină transferul la Spitalul de Boli Infecţioase, unde prezintă transpiraţii profuze, frisoane şi hepatomegalie dureroasă. Sub tratament cu Ciprofloxacin, Tienam, starea generală se ameliorează parţial pentru câteva zile, dar reapariţia simptomelor impune transferul în

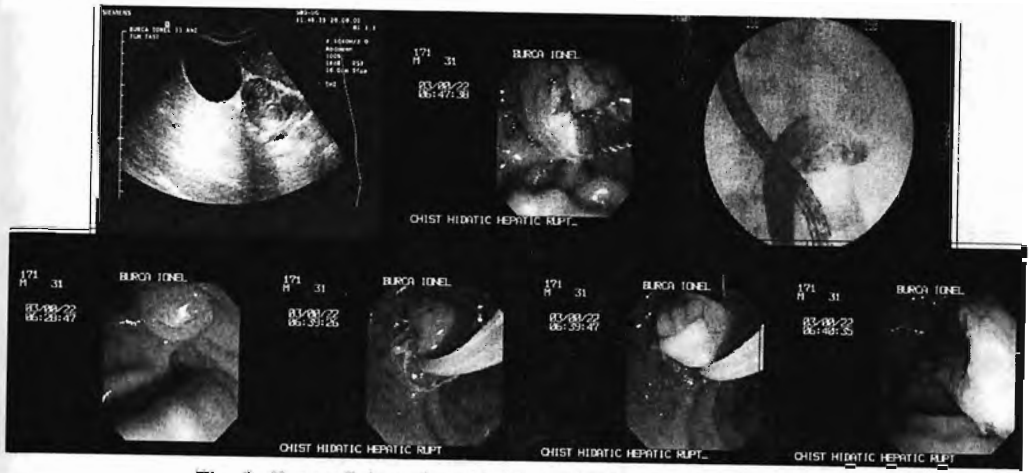


Fig. 2. Ecografiehepatică. ERCP + sfincterotomie endoscopică

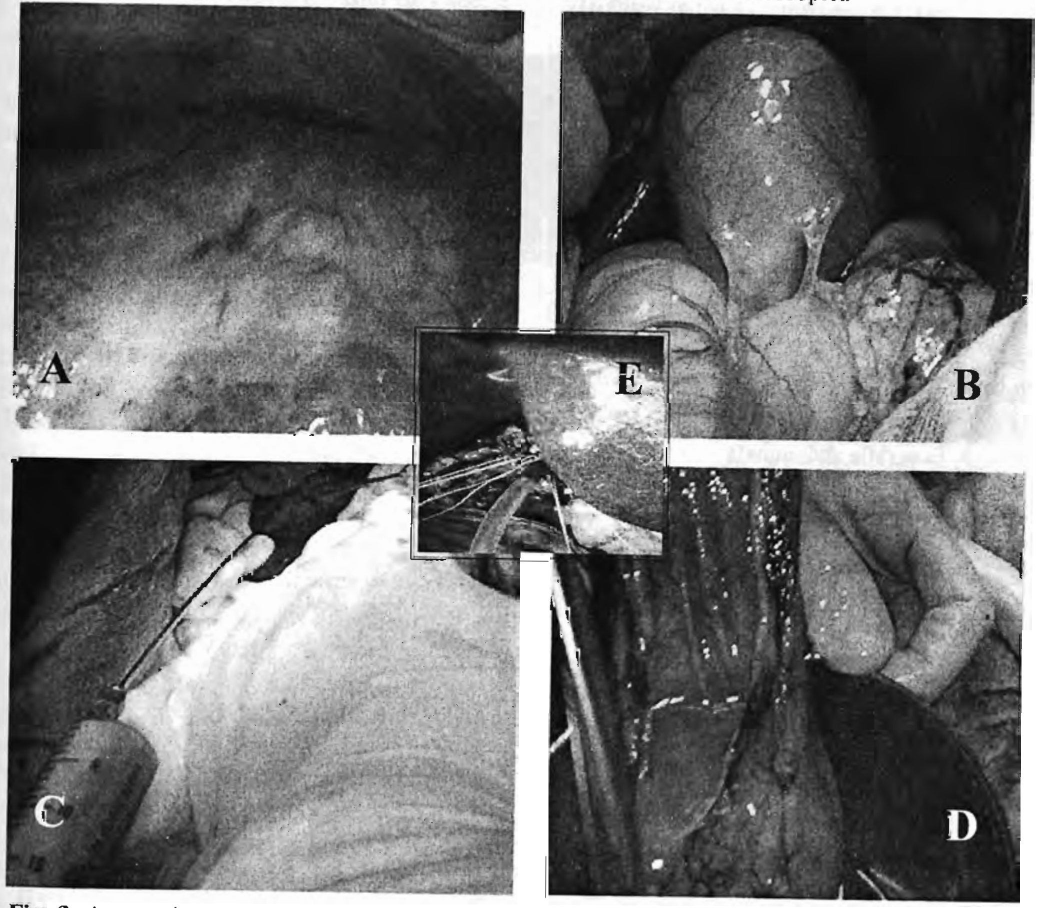


Fig. 3. Aspecte intraoperatorii. A. Abces hepatic prin chist hidatic supurat segment IV rupt în calea biliară, parţial evacuat. B. Piocolecist ; C. Puncţie, inactivare cu ser hiperton, evacuare ; D. Piesă de colecistectomie – secţionată : puroi şi vezicule mici hidatice ; E. Drenaj Kehr

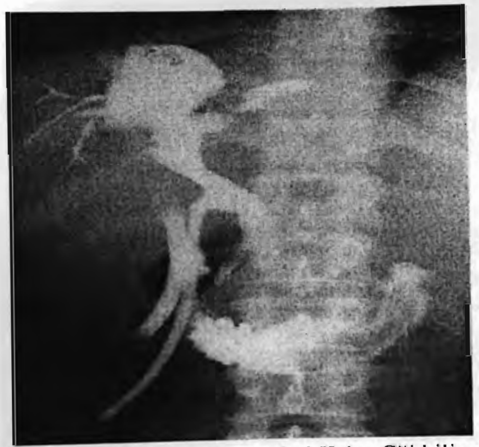


Fig. 4. Colangiografia pe tubul Kehr. Căi biliare libere, pasaj oddian prezent, cavitate reziduală de 3-4 cm având comunicare largă cu CBP

serviciul chirurgical. La internare în Clinica noastră, la o lună de antibioterapie (Ertapenem, Ciprofloxacin, Ceftazidim), bolnavul prezintă stare generală influienţată, stare de nutriţie precară (T=176 cm, G=65 kg), facies suferind, teros, este febril (temperatură - 39°C), şi prezintă transpiraţii profuze, murmurul vezicular este înăsprit şi are raluri ronflante pe ambele arii pulmonare.

Examenul local evidenţiază abdomen ce participă limitat la mişcările respiratorii, dureros spontan şi la palpare în hipocondrului drept, unde se constată hepatomegalie regulată, renitent elastică, la 10 cm sub rebord, dureroasă. Tuşeu rectal este normal. Exporările de laborator arată: Hb=9,5 g/dL, Ht=33,8%, GA= 17400/mmc, Tr=351000/mmc, IP=69%, BT=0,75 mg/dL, FA=304 UI/L, Glicemie=145 mg/dL, TGO=47 UI/L, TGP=21 UI/L, uree=23 mg/dL, creatinină=1,4 mg/dL, RA=18. Ecografia abdominală pune în evidenţă ficat mărit de volum, care conţine în segmentele VII-VIII o formaţiune hipoecogenă de 179 x 109 mm, fără semnal Doppler în interior. În segmentele V-VI se găsesc câteva formaţiuni lichidiene de 58, 43 şi respectiv 38 mm. În segmentul II este descoperită o altă formaţiune lichidiană, neomogenă de 87 x 64 mm, aerobilie bilobară; colecist voluminos, cu edem parietal şi 2 calculi (fig. 5). Tomodensitometria descoperă hepatomegalie cu structură neomogenă, ce conţine numeroase formaţiuni hipodense imprecis delimitate localizate în ambii lobi hepatici: în lobul hepatic stâng - formaţiune de 9x6 cm; în lobul hepatic drept în segmentele V, VI, VII un grup de formaţiuni ce confluează, de 17x10 cm; colecist hidropic, ocupat de material litiazic; aerobilie; splenomegalie; venă portă permeabilă; pleurezie dreaptă în cantitate mică (fig. 6). Se intervine chirurgical prin laparotomie mediană şi se găsesc abcese hepatice în ambii lobi, ulcer prepiloric cicatrizat, colecistită acută litiazică. S-a practicat puncţie, evacuarea abceselor, lavaj, drenaj, colecistectomie (fig. 7). Antibiograma din puroiul prelevat intraoperator nu evidenţiază germeni. Sub tratament cu ertapenem (Invanz), evoluţia a fost favorabilă.

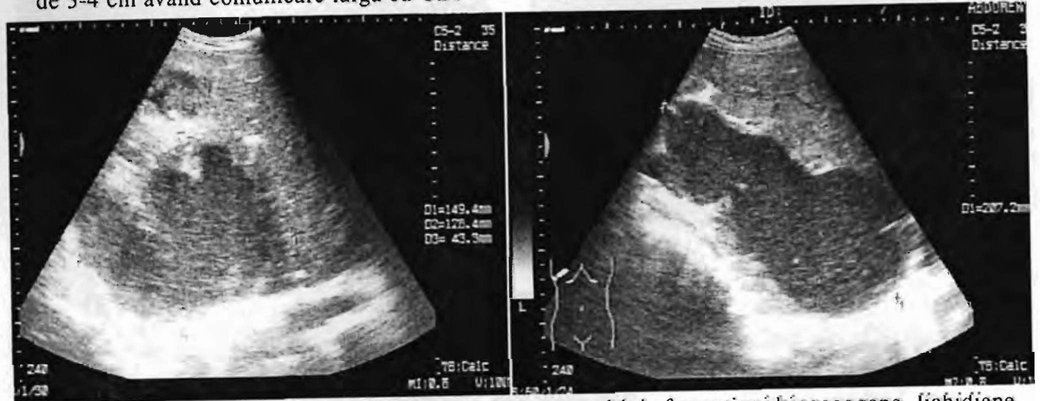


Fig. 5. Ecografie abdominală - abces hepatic piogen: multiple formaţiuni hipoecogene, lichidiene hepatice fără semnal Doppler în interior

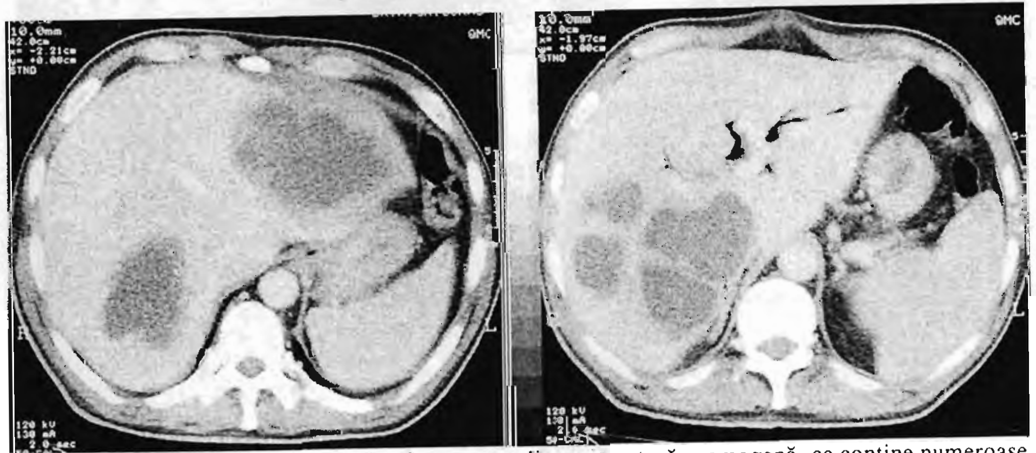


Fig. 6. Examen computer tomografic: hepatomegalie cu structură neomogenă, ce conţine numeroase formaţiuni hipodense imprecis delimitate localizate în ambii lobi hepatici; colecţia Clinicii Radiologice

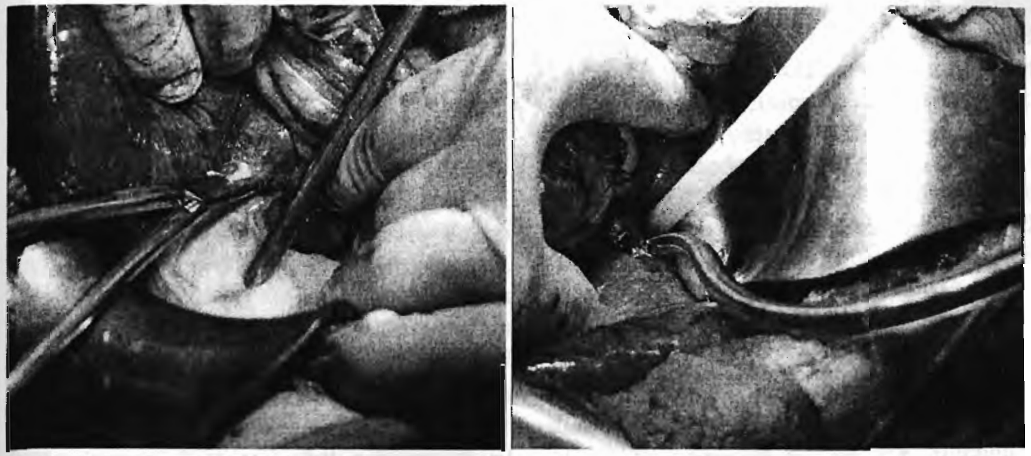


Fig. 7. Evacuarea şi drenajul unor abcese hepatice multiple - aspecte intraoperatorii

Obs. 5. Pacientul S.G., 69 ani, din mediul rural s-a internat în data de 14.02.08 (FO 8391) pentru dureri în etajul abdominal superior, febră, greţuri, inapetenţă şi scădere ponderală (6 kg în ultimele 2 luni). Din antecedentele personale reţinem că în 1999 pacientul a fost operat pentru chist hidatic hepatic seg VI. Pacientul menţionează că în evoluţia postoperatorie s-a menţinut un tub de dren un timp mai îndelungat datorită drenajului biliar persistent. Pacientul a fost externat cu tubul de dren scurtat şi lăsat în pansament. La controlul ulterior, tubul nu a fost găsit, pacientul declarând extragerea sa accidentală. Evoluţia postoperatorie a fost favorabilă. În urmă cu 2 luni au apărut dureri în hipocondrul drept şi epigastru, fiind însoţite de scădere ponderală, febră şi alterarea stării generale. La examenul local constatăm abdomen mărit de volum, participă limitat la mişcările respiratorii. La palpare se constată apărare musculară în epigastru şi hipocondrul drept, hepatomegalie dureroasă, 5 cm sub rebord, margini rotunjite şi foarte dureros. Starea generală este influenţată, tegumentele sunt palide, calde, umede. Pacientul este tahicardic (110/min), polipneic. Explorările de laborator arată: Hb=10 g/dL, Ht=28%, GA=19700/mmc, K^+=5,9, RA=12, TGO=57 UI/L, TGP=63 UI/L. Ecografia abdominală evidenţiază un ficat mărit de volum, care conţine în segmentul VII, o formaţiune mixtă de 69x53 mm (obs. corp străin), iar radiografia abdominală simplă arată un nivel hidroaeric pe aria de proiecţie a ficatului drept. Se intervine chirurgical constatându-se un abces hepatic în segmentul VII, iar în interiorul abcesului un corp străin (tub de dren de 8 cm) şi material textil calcificat. S-a practicat extragerea corpurilor străine, evacuarea puroiului, lavaj, drenaj. Examenul bacteriologic al puroiului a evidenţiat enterococ. Evoluţia postoperatorie a fost lent favorabilă. S-a efectuat cavitatografie de control care a evidenţiat material litogen în CBP; s-a practicat sfincterotomie endoscopică cu extragerea acestuia. Drenajul s-a redus progresiv permiţând suprimarea tubului.

DISCUŢII

Incidenţa abceselor hepatice este greu de stabilit. Rubin şi col. raportează în 1974 o incidenţă de 16 la 100000 pacienţi internaţi (7), iar C.J. Huang în 1996 remarcă o incidenţă în uşoară creştere, explicată şi prin creşterea agresivităţii chirurgicale (8).

Comparativ cu studiul clasic prezentat de Ochsner şi De Bakey, actualmente se semnalează o creştere a mediei de vârstă a bolnavilor cu abcese hepatice şi o modificare a etiologiei, diagnosticului, bacteriologiei şi tratamentului acestei afecţiuni.

Din punct de vedere *patogenic*, astăzi, se discută în ordinea frecvenţei contaminarea ascendentă biliară, diseminarea hematogenă, infectarea unor leziuni hepatice prin paraziţi (obs.1), corpi străini (obs.2), necroză tumorală, traumatisme, intervenţii chirurgicale etc.

Printre factori etiologici se citează:

- infecţiile biliare ascendente cu angiocolită supurată secundară obstrucţiei căii biliare principale sau a căilor intrahepatice prin litiază, neoplasme sau după anastomoze biliodigestive, care tind să ocupe primul loc (30-50%). Tot pe cale ascendentă se produce şi contaminarea chistului hidatic hepatic. De asemenea, cavităţile reziduale hidatice se pot transforma în abcese hepatice, dacă fistula biliară nu este rezolvată şi conţine corpi străini (obs. 5);
- emboliile septice pe calea venei porte în procese infecţioase abdominale (în scădere de la 30-48% la 15-20%) faţă de noţiunea clasică a "ficatului apendicular" descris de Dieulafoy (3); un cancer de colon silenţios se poate manifesta printr-un abces hepatic (9); astăzi se discută mai frecvent focarele septice postoperatorii, boala Crohn, diverticuloza colică, rectocolita ulcerohemoragică;
- rar, embolia septică provine din teritoriul cav superior şi se produce retrograd pe calea venelor suprahepatice (10);
- artera hepatică poate vehicula germeni în caz de septicemii sau focare supurate diverse (pelvine, endocardita septică, osteomielită, furunculoză) (10%);
- extensia locală este incriminată în abcesele hepatice după abcese din patul veziculei biliare, ulcere perforate, abcese subfrenice sau perinefretice; mai sunt citate infectii ale unor zone de infarct hepatic după embolizare terapeutică, alcoolizare (11);
- într-un procent de 12-20% nu pot fi obiectivate nici poarta de intrare, nici condiţiile proprii genezei supuraţiei hepatice (abcese hepatice criptogenetice).

O categorie aparte o formează abcesele hepatice pe teren imunodeprimat - SIDA (12), TBC (10) prin terapie imunosupresivă, droguri citotoxice,corticoterapie. Terapia agresivă a neoplaziilor hepatobiliare şi pancreatice a crescut în ultimul timp incidenţa abceselor hepatice de etiologie malignă (8,13).

Modificări s-au înregistrat şi din punct de vedere bacteriologic constatându-se o creştere a numărului de abcese hepatice determinate de germeni anaerobi sau de asocieri polimicrobiene (*Pseudomonas* şi streptococ)(14), de agenţi etiologici neobişnuiţi *Campylobacter jejuni* (15), *Salmonella typhi* (16), fungi. S-au raportat abcese hepatice determinate de *Klebsiella pneumonie* (17), unele abcese fiind asociate cu endoftalmite endogene (18). Hemoculturile rămân de multe ori sterile datorită unor germeni care se cultivă dificil sau antibioterapiei prelungite. S-au mai citat abcese hepatice concomitente cu hemobilie într-o ruptură de anevrism de arteră hepatică (19).

Primele 2 cazuri prezentate se referă la abcese hepatice de cauză rară pentru ţara noastră: ascarizi migraţi intrahepatic pe cale biliară şi corp străin aşchie de lemn migrat accidental din stomac în ficat. În ambele observaţii diagnosticul a fost precizat intraoperator. O problemă deosebită o ridică chistul hidatic hepatic, care se suprainfectează după ruptura largă în căile biliare şi poate dezvolta forme grave cu angiocolite supurate icterouremigene ce impun un tratament chirurgical prompt (obs. 3). Cavităţile reziduale după chistul hidatic operat, rupt în căile biliare în care persistă comunicarea largă postoperator, în absenţa tratamentului bipolar (gest pe CBP), pot dezvolta în timp abcese hepatice. Prezenţa corpilor străini în cavitatea reziduală în contextul comunicării cavităţii reziduale cu CBP favorizează apariţia abcesului hepatic. Este cazul ultimei observaţii cu o cavitate reziduală mare care reţinea un fragment de tub de dren rupt şi material textil calcificat, care s-a vindecat doar după sfincterotomie endoscopică şi evacuarea materialului litogen coledocian. Observaţia 4 este interesantă prin diagnosticul tardiv a unor abcese hepatice multiple, de origine probabil biliară, pe teren diabetic, tratat intensiv cu antibiotice şi la care puroiul evacuat era steril.

Diagnosticul abceselor hepatice este imagistic. În general afecţiunea este rar evocată, deoarece datele anamnestice sunt insuficiente, manifestările clinice necaracteristice, confundate cu cele ale afecţiunilor cauzale sau modificate de antibioterapia prelungită. Toate acestea conduc la întârzieri de diagnostic care influenţează nefavorabil prognosticul (15% din cazuri sunt descoperite intraoperator sau chiar necropsic). Actualmente un rol important în diagnostic îl au ecografia şi CT, metode neinvazive, cu o fiabilitate de peste 90%. Scintigrafia poate oferi date utile pentru diagnostic cu o acurateţe de 86%.

Tratamentul abceselor hepatice este intr-o etapa a acumularilor calitative.Principiul clasic al lui Ochsner „incizie si drenaj eficient evitand la maximum contaminarea suprafeţelor pleurale si peritoneale" se menţine şi astăzi în unele situaţii, fiind însă „modulat" de posibilităţile antibioterapiei moderne şi mai ales de metodele nechirurgicale moderne - puncţie-aspiraţie pe cale transparietohepatică eco sau CT ghidată. Metoda a câştigat teren în ultimul timp, fiind alternativă a tratamentului chirurgical. Ea nu este lipsită de riscuri, fiind înregistrate şi accidente (fistula hepatocolică) (20,21). Antibioterapia cu spectru larg şi apoi ghidată de antibiogramă alături de reechilibrarea hidroelectrolitică rămâne un element de bază în terapeutica abceselor hepatice.

Tratamentul chirurgical rămâne singura metodă în caz de ruptura a abcesului în peritoneu, complicaţie rară dar foarte gravă (22). Rezecţia hepatică are indicaţii de excepţie în caz de tumori hepatice abcedate (23). Mortalitatea încă ridicată (3-18%) este corelată cu o serie de factori: malignitate, formare de gaz (24), diabet, imunosupresie, timp de protrombină modificat (25), abcese multiple (26). Sunt serii mici în literatură fără mortalitate (27).

CONCLUZII

Diagnosticul precoce prin metode moderne de explorare şi tratament prompt al abceselor hepatice a contribuit la ameliorarea prognosticului acestei afecţiuni. În etiologia lor trebuie reţinute şi cauzele rare.

BIBLIOGRAFIE

1. Ancuşa D, Fluture VI. Abcesele hepatice. In: Angelescu N editor. *Tratat de patologie chirurgicală.* Bucureşti: Ed. Medicală; 2003, 1834-1839.
2. Funariu G. *Chirurgie abdominală.* Cluj Napoca: Ed. Dacia; 2002, 124-127.
3. Ochshner A, DeBakey M, Murray S. Pyogenic abscess of the Liver. *Am J Surg* 1938; 40: 292.
4. Ciurea S. Abcesele hepatice In: Popescu I editor. *Chirurgia ficatului.* vol. I. Bucureşti: Ed. Universitară „Carol Davila"; 2004, 357-366.
5. Grigoroiu M, Ionescu M, Braşoveanu V, Hrehoreţ D, Boeţi P, Popescu I. Abcese hepatice piogene. Evaluarea schimbărilor apărute în etiologie, diagnostic, tratament şi evoluţie. *Chirurgia* 2000; 95: 511-521.
6. Tyson GD, Branum MA, Meyers WC. Hepatic abscess; Changes in etiology, diagnosis, and management. *Ann Surg* 1990; 212: 655-662.
7. Rubin RH, Schwartz MN, Malt R. Hepatic Abscess Changes. In: Clinical, Bacteriologic and Terapeutic Aspects. *Am J Med* 1974; 57: 601-610.
8. Huang CJ, Pitt HA, Lipsett PA et al. Pyogenic hepatic abscess: changing trends over 42 Years. *Ann Surg* 1996; 223 (5): 600-609.
9. Teitz S, Guidetti-Sharon A, Manor H, Halevy A. Pyogenic liver abscess: Warning indicator of silent colonic cancer. *Colon & Rectum* 1995; 38 (11): 1220-1223.
10. Nampoory MRN, Halim MMA, Sreedharan R, Al-Sweih NAS, Gupta RK, Constandi JN, Johny KV. Liver abscess and disseminated intravascular coagulation in tuberculosis. *Postgraduate Med J* 1995; 71 (838): 490-492.
11. De Baere T, Roche A, Amenabar JM et al. Liver abscess formation after local treatment of liver tumors. *Hepatol* 1996; 23: 1436-1440.
12. Murray JG, Patel MD, Lee S, Sandhu JS, Feldstein VA. Microabscesses of the liver and spleen in AIDS: detection with 5-MHz sonography. *Radiol* 1995; 197 (3): 723-727.
13. Rintoul R, O'Riordain MG, Laurenson IF, Crosbie JL, Allan PL, Garden OJ. Changing management of pyogenic liver abscess. *Br J Surg* 1996; 83 (5): 1215-1218.
14. Giorgio A, Tarantino L, De Stefano G. Hepatic abscess caused by Salmonella typhy: diagnosis and management by percutaneous echo-guided needle aspiration. *Ital J Gastroenterol* 1996; 28: 31-33.
15. Brmbolic B. Multiple abscesses of the liver caused by Campylobacter jejuni. *J Clin Gastroenterol* 1995; 20 (4): 307-309.
16. Giorgio A, Tarantino L, Mariniello N et al. Pyogenic liver abscesses: 13 years of experience in percutaneous needle aspiration with US guidance. *Radiol* 1995; 195: 122-124.
17. Lund-Tonnensen S. Liver abscess: an unusual manifestation of pneumococcal infection. *Scand J Infect Dis* 1995; 27: 397-398.
18. Fong-Fu Chou, Hsi-Kung Kou. Endogenous endophthalmitis associated with pyogenic hepatic abscess. *J Am Coll Surg* 1996; 182 (1): 33-36.
19. Liou TC, Ling CC, Pang KK. Liver abscess concomitant with hemobilia due to rupture of hepatic artery aneurysm: a case report. *Hepato-Gastroenterol* 1996; 43: 241-244.
20. Seeto RK, Rockey DC. Pyogenic liver abscess - changes in etiology, management and outcome. *Medicine* 1996; 75 (2): 99-113.
21. Satoh H, Matsuyama S, Mashima H, Imoto A, Hidaka K, Hisatsugu T. A case of hepatocolic fistula after percutaneous drainage for a gas-containing pyogenic liver abscess. *J Gastroenterol* 1994, 29: 782-785.

22. Fong-Fu Chou, Shyr-Ming Sheen-Chen, Tze-Yu Lee. Rupture of pyogenic liver abscess. *Am J Gastroenterol* 1995; 90 (5): 767-770.
23. Knoop M, Kling N, Langrehr JM, Bechstein WO, Blumhardt G, Keck H, Neuhaus P. Gibt es noch eine indikation zur leberresektion bei leberabszessen? (Is liver resection for hepatic abscesses still indicated?) *Zentralbl Chir* 1995; 120: 461-466.
24. Fong-Fu Chou, Shri-Ming Sheen-Chen, Yaw-Sen Chen, Tze-Yu Lee. The comparison of clinical course and results of treatment between gas-forming and non-gas-forming pyogenic liver abscess. *Arch Surg* 1995; 130: 401-405.
25. Chu KM, Fan ST, Lai ECS, Lo CM, Wong J. Pyogenic liver abscess - an audit of experience over the past decade. *Arch Surg* 1996; 131: 148-152.
26. Fong-Fu Chou, Shri-Ming Sheen-Chen, Yaw-Sen Chen, Mao-Chan Chen. Single and multiple pyogenic liver abscesses: clinical course, etiology and result of treatment. *World J Surg* 1997; 21 (4): 384-389.
27. Strat V, Diaconescu MR, Chifan M et al.. Abcesele hepatice. *Rev Med Chir* 1989; 2: 299-302.

NOUTĂŢI

PROBLEMELE TERAPIEI INFECŢIILOR DETERMINATE DE MICROORGANISME MULTIREZISTENTE LA ANTIBIOTICE

De mai bine de un deceniu rezistenţa la substanţe antimicrobiene s-a schimbat dramatic prin creşterea prevalenţei *Staphylococcus aureus* meticilino-reistent (MRSA), a pneumococilor rezistenţi la penicilină şi eritromicină, a enterococilor rezistenţi la vancomicină dar şi a numeroase specii de bacilli gram negativi multirezistenţi. Secţiile de terapie intensivă sunt focare de emergenţă şi răspândire a microorganismelor multrirezistente la antibiotice. Pacienţii din aceste secţii sunt expuşi terapiei cu antibiotic cu spectru larg şi oportunităţilor de transmitere a bacteriilor multirezistente de la un pacient la altul. Implicarea MRSA frecvent în ultimii ani în infecţiile comunitare poate fi explicată prin: presiunea selectivă a terapiei antibacteriene în colectivitate dar şi prin transferul din spital. Prezenţa acestor tulpini este îngrijorătoare pentru că poartă gena PVL (Panton-Valentine Leukocidine) asociată virulenţei crescute. Pentru a gestiona infecţiile determinate de astfel de bacteria este imperios necesar a utiliza o terapie antimicrobiană adecvată, în doză şi durată corespunzătoare (Chastre J. Evolving problems with resistant pathogens. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (3s): 3-14).

Carmen Pânzaru

TERAPIA ANTIMICROBIANĂ ADECVATĂ *VERSUS* INADECVATĂ

Autorii definesc terapia inadecvată ca utilizarea unui antibiotic faţă de un microorganism agent etiologic care este rezistent la acesta, şi consideră că alături de întârzierea aplicării unui tratament adecvat, se asociază cu o morbiditate şi o mortalitate crescută. Studiul VAP (ventilator-associated pneumonia), infecţiilor intraabdominale, bacteriemiilor a confirmat mortalitatea crescută la pacienţii care nu au primit terapie antimicrobiană adecvată. Când este cuantificată perioada de spitalizare, şi respectiv costul, este important de precizat momentul apariţiei infecţiei şi a instituirii terapiei. Este adevărat că terapia infecţiei determinată de microorganisme multirezistente este costisitoare, dar nu trebuie subapreciate consecinţele pentru pacient şi colectivitate. Obiectivele pe care şi le propun autorii: scăderea incidenţei rezistenţei la antibiotice şi strategii de combatere a răspândirii acesteia (Davey PG, Marwick C. Apropiate vs inapropiate antimicrobial therapy. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14 (3s): 15-21).

Carmen Pânzaru

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

BOALA CASTLEMAN CU LOCALIZARE RETROPERITONEALĂ

Maria-Gabriela Roşca[1], D. Mariciuc[1], D. Ferariu[2], V. Scripcariu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Clinica a III-a Chirurgie
Centrul de Cercetare în Chirurgie Oncologică şi Training în Chirurgie Generală
Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
2. Laboratorul de Anatomie Patologică

ISOLATED RETROPERITONEUM CASTLEMAN'S DISEASE (Abstract): Castleman's disease is a rare disorder characterized by proliferation of the lymphoid tissue. Castleman's disease affects both males and females, and may occur at any age. Little is known about how often Castleman's disease actually occurs, other than it is rare, or what causes the disease. The most frequent location of the disease is the mediastinum. The location of the disease in the retroperitoneum is rare and it is usually associated with the generalized form of the disease. We report a case of a 34-year old man with isolated retroperitoneum Castleman's disease of the hyaline-vascular type, which presented as a palpable abdominal mass. The final diagnosis was reached after exploratory laparotomy and resection of the tumor. **Key words**: CASTLEMAN'S DISEASE, LYMPHOID TISSUE, HYALINE- VASCULAR TYPE

Boala Castleman este o afecţiune limfoproliferativă de origine necunoscută, descrisă pentru prima dată de Dr. Benjamin Castleman în Boston în 1956 (1). Este cunoscută şi sub denumirea de hiperplazie gigantă a nodulilor limfatici sau hiperplazia angiofoliculară a nodulilor limfatici. Există două tipuri histologice ale bolii: a) tipul hialino-vascular prezent în peste 90% din cazuri, de obicei este asimptomatic; b) tipul cu celule plasmatice asociat cu manifestări sistemice. Boala Castleman face parte din grupul bolilor cu proliferare limfoidă atipică care sunt de obicei confundate cu limfoamele maligne (2).

Prezentăm cazul unui bărbat de 34 ani cu boală Castleman cu localizare retroperitoneală, care s-a internat pentru o masă abdominală palpabilă. Diagnosticul definitiv a fost obţinut după laparotomia exploratorie şi rezecţia tumorală, prin examen anatomo-patologic.

CAZ CLINIC

Pacientul P.S. în vârstă de 34 ani, sex masculin, se internează în clinica de chirurgie pentru tratamentul unei formaţiuni tumorale abdominale descoperite incidental la un examen ecografic de rutină. Pacientul este purtător cronic de virus hepatitic B. Examenul clinic la internare evidenţiază un pacient eutrofic, stare generală bună, cu abdomen depresibil, uşor sensibil dureros la palparea profundă în flanc-hipocondrul stâng unde se evidenţiază o formaţiune tumorală relativ dură, imobilă pe planurile superficiale sau profunde, cu diametrul de aproximativ 15 cm. Bio-umoral pacientul nu prezintă modificări (hemoglobina normală, VSH normal). Radiografia toracică este normală. Examenul ecografic evidenţiază în flancul stâng o masă de 80x100 mm, imprecis delimitată, cu structură relativ omogenă, hipoecogenă, foarte bogat vascularizată, cu vase care se ramifică spre periferie şi care prezintă semnal Doppler de tip venos; formaţiunea amprentează vena renală stângă. Examinarea CT a abdomenului efectuată înainte şi după administrarea substanţei de contrast pe cale intravenoasă evidenţiază formaţiune densă intraabdominală localizată inferior de regiunea corporeo-caudală pancreatică, anterior de rinichiul stâng, bine delimitată, cu diametre axiale maxime de 130-220 mm şi o extensie cranio-caudală de 90 mm; formaţiunea descrisă prezintă iodofilie intensă, discret neomogenă şi vine în contact în polul superior cu un traiect vascular tortuos cu calibrul de 18mm ce pare conectat la vena splenică şi vena renală stângă; adenopatii lateroaortice cu dimensiuni maxime centimetrice. Examinarea IRM cu angio-RM a abdomenului superior efectuată în completarea examinării CT evidenţiază masă tumorală ce apare cu semnal tisular, gadolinofilă, cu efect de masă asupra structurilor adiacente inclusiv asupra traiectului vascular descris polar superior conectat la vena splenică şi vena renală stângă, ce apare cu flux sanguin rapid.

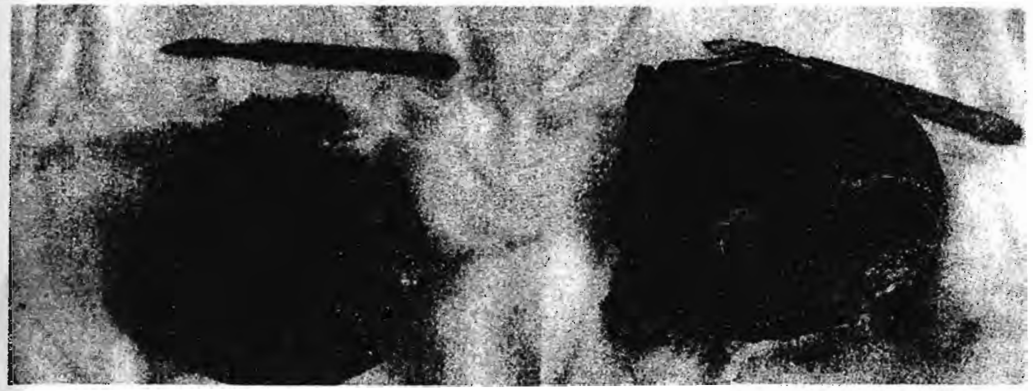


Fig. 1. Tumoră - aspect macroscopic

Se intervine chirurgical, intraoperator se evidenţiază o formaţiune tumorală ovoidală situată retroperitoneal. Se pătrunde în spaţiul retroperitoneal prin decolarea colonului stâng spre medial. Tumora este de consistenţă elastică, cu capsulă netedă, lucioasă, care vine în raport cu marginea inferioară a pancreasului, bine vascularizată. Examenul extemporaneu arată originea limfoidă a tumorii, aspecte microscopice ce pot sugera un limfom, fără alte precizări. Se practică ablaţia formaţiunii fără a leza integritatea capsulei (fig. 1).

La 7 zile postoperator pacientul prezintă un drenaj limfatic pe tubul de dren plasat la nivel retroperitoneal, cu debit mare (800 mL/zi), cu aspect de chil (alb lăptos), fără alte manifestări clinice. Debitul drenajului scade până la dispariţie după tratament cu octreotid 0,3 mg/zi, administrat subcutanat in 3 prize, confirmat şi prin examen ecografic (lipsa lichidului liber intraabdominal). Examenul histopatologic stabileşte diagnosticul de boală Castleman, tip hialinovascular (vezi imaginea microscopică). Datorită absenţei localizărilor secundare, am considerat cazul nostru ca fiind boală Castleman formă localizată retroperitoneală. Pacientul este externat la 10 zile postoperator. La 5 luni postoperator pacientul nu prezintă semne clinice sau imagistice de recidivă.

DISCUŢII

Boala Castleman este o afecţiune rară, cu o frecvenţă şi etiologie necunoscută, caracterizată prin hiperplazia nodulilor limfatici. Deşi este mai frecvent prezentă la adulţi, poate să intereseze şi perioada copilăriei (3). În marea majoritate a cazurilor, boala este localizată în mediastin. Totuşi, au fost descrise şi localizări extratoracice,

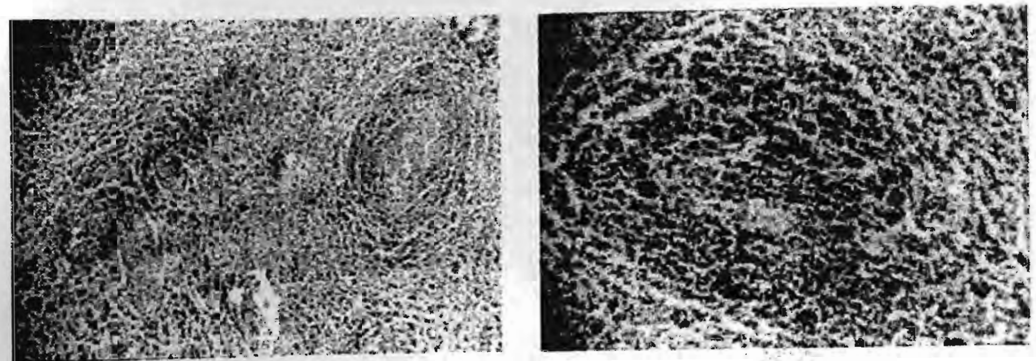


Fig. 2. Boala Castleman, tip hialino-vascular

inclusiv mezenterul, retroperitoneul, axila, regiunea latero-cervicală.

Histopatologic se descriu 2 tipuri majore : tipul hialino-vascular şi tipul cu celule plasmatice (4). Tipul cu celule plasmatice este prezent la mai puţin de 10% dintre pacienţii cu boala Castleman şi este caracterizat prin proliferare difuză a celulelor plasmatice interfoliculare cu o componentă vasculară minimă. Tipul hialino-vascular, care este cel mai frecvent (90%) este caracterizat prin foliculi mari, indicând o proliferare capilară importantă şi hialinizare într-o masă de ţesut limfoid. La periferia acestor foliculi există un strat concentric de limfocite care ocupă zona periferica (**mantle zone**). Rareori zona periferică prezintă hiperplazie proeminentă în timp ce zona interfoliculară prezintă o proliferare vasculară minimă spre moderată şi rari centri germinali. Acest subtip hialino-vascular este numit subtipul limfoid si a fost descris cu localizare : mediastinală, spaţiul retroperitoneal şi regiunea inghinală dar nu şi la nivel mezenteric (3,4).

Pacienţii cu boală Castleman tipul anatomo-patologic hialino-vascular sunt de obicei asimptomatici iar afecţiunea este descoperită accidental, în contrast cu pacienţii cu tipul anatomo-patologic cu celule plasmatice care sunt de obicei simptomatici în momentul diagnosticului (5). Manifestările clinice ale bolii nu sunt specifice şi pot include : febră, fatigabilitate, scădere ponderală. Biochimic se poate evidenţia anemia, VSH crescut sau hipergamaglobulinemie. În cazul nostru, pacientul s-a prezentat cu o formaţiune abdominală palpabilă în flancul stâng fără alte semne clinice ale bolii, explorările biochimice fiind în limite normale.

Boala Castleman poate fi împărţită în 2 entităţi : forma localizată - cea mai frecvent întâlnită - şi forma multicentrică. Aproximativ 80% dintre cazurile formei localizate prezintă tipul anatomo-patologic hialino-vascular iar 20% tipul cu celule plasmatice. Localizarea frecventă în cazul formei solitare este mediastinul (70%) în timp ce localizarea mezenterică, retroperitoneală este rară. Forma **sistemică** a bolii este caracterizată prin limfadenopatii diseminate, asociată cu manifestări sistemice iar anatomo-patologic predomină tipul cu celule plasmatice (6). Indiferent de tipul histo-patologic al afecţiunii, forma **localizată** prezintă o evoluţie benignă. Excizia chirurgicală completă a formaţiunii - după laparotomie sau chiar abord laparoscopic - duce la vindecare. Nu au fost raportate cazuri de recurenţă apărute după excizia totală a formaţiunii solitare. Forma **multicentrică** a bolii are o evoluţie mai agresivă şi este asociată cu un pronostic rezervat (7,8). Tratamentul în acest caz rămâne controversat, fiind propuse mai multe variante : chirurgical, chimioterapie, corticoterapie, combinaţii ale acestora (9,10).

Este necesară o explorare completă a pacientului, care să includă examen clinic minuţios cu explorarea axilei (evidenţierea eventualilor noduli limfatici), gâtului sau regiunii inghinale şi examen computer tomografic al toracelui. Diagnosticul preoperator al bolii este dificil, deşi există metode imagistice moderne (11). Malara et al. (12) descrie în detaliu trăsăturile ecografiei, computer tomografiei şi angiografiei în boala Castleman. Conform acestui studiu, examenul ecografic evidenţiază masă hipoecogenă, neomogenă, iar ecografia Doppler arată o formaţiune tumorală vascularizată cu o rezistenţă scăzută la flux (13). Examenul computer tomografic confirmă omogenitatea şi hipervascularizaţia tumorală şi angiografia arată o masa bine vascularizată, mai ales în tipul hialino-vascular. Aceste trăsături nu sunt specifice bolii Castleman, ele pot fi observate şi în tumorile limfoide, benigne sau maligne sau în alte tumori retroperitoneale (14). Diagnosticul pozitiv este dat de examenul histo-patologic al piesei de rezecţie.

CONCLUZII

În cazul prezentat, pacientul este investigat pentru formaţiunea abdominală fără a avea nici o simptomatologie clinică, examenul ecografic efectuat de rutină evidenţiind tumora abdominală bine vascularizată, confirmată şi prin examen CT şi angio-RM. Particular este drenajul limfatic cu aspect de chil apărută la 7 zile postoperator cu debit mare care se reduce iar apoi dispare prin tratament cu octreotid. Diagnosticul de boala Castleman formă localizată, tip hialinovascular a fost pus în urma examenului histopatologic asociat cu examenul clinic şi paraclinic (lipsa evidenţierii localizărilor secundare).

În concluzie, boala Castleman trebuie să fie inclusă în diagnosticul diferenţial al oricărei tumori retroperitoneale în special când examenul biochimic şi imagistic ridică această suspiciune.

BIBLIOGRAFIE

1. Castleman B, Towne VW. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 40011. *N Engl J Med* 1954 ; 250 : 26-30.
2. Kimura T, Inoue T, Katayama K, Hirose K, Imamura Y, Yamaguchi A. Mesenteric Castleman's disease : report of a case. *Surg Today* 2002 ; 32 : 651-654.
3. Wei BP, Taylor R, Chan YF, Waters K, Alex G. Mesenteric Castleman's disease in childhood. *ANZ J Surg* 2004 ; 74 : 502- 504.
4. Keller AR, Hochholzer L, Castleman B. Hyaline-vascular and plasma-cell types of giant lymph node hyperplasia of the mediastinum and other locations. *Cancer* 1972 ; 29 : 670-683.
5. Kojima M, Nakamura S, Iijima M, Murayama K, Sakata N, Masawa N. Lymphoid variant of hyaline vascular Castleman's disease containing numerous mantle zone lymphocytes with clear cytoplasm. *APMIS* 2005 ; 113 : 75-80.
6. Libson E, Fields S, Strauss S et al. Widespread Castleman disease : CT and US findings. *Radiol* 1988 ; 166 : 753.
7. Williams MD, Eissien FA, Salameh JR, Ailawadi G, Sweeney JF. Laparoscopic approach to the management of intraabdominal unicentric Castleman's disease. *Surg Endosc* 2003 ; 17 : 1497.
8. Ushio T, Yoshimura K, Kojima A et al. A case of Castleman's disease that recurred nine years after initial surgical removal. *Nippon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi* 1994 ; 1175-1180.
9. Herrada J, Cabanillas F, Rice L, Manning J, Pugh W. The clinical behavior of localized and multicentric Castleman Disease. *Ann Intern Med* 1998 ; 128 : 657-662.
10. Bowne WB, Lewis JJ, Filippa DA et al.The management of unicentric and multicentric Castleman's disease : a report of 16 cases and a review of the literature.Cancer. 1999 ; 706-717.

11. Kunishima S, Taniguchi H, Koh T, Yamaguchi A, Yamagishi H. F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in mesenterial Castleman's lymphoma. *Clin Nucl Med* 2001 ; 26 : 789-790.
12. Malara F, Price D, Fabiny R. Mesenteric Castleman's disease : ultrasound, computed tomography and angiographic appearance. *Austral Radiol* 2000 ; 44 : 109-111.
13. Yamashita Y, Hirai T, Matsukawa T, Ogata I, Takahashi M. Radiological presentations of Castleman's disease. *Comput Med Imaging Graph* 1993 ; 17 : 107-117.
14. Jeffrey R, McGahan J. Gastrointestinal tract and peritoneal cavity : peritoneal mesenteric tumors. In : McGahan J, Goldberg B editors. *Diagnostic Ultrasound : a Logical Approach*. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1998, 550-554.

NOUTĂŢI

OFTALMOPATIA BASEDOWIANĂ POATE FI UN FACTOR DE RISC PENTRU DEZVOLTAREA HIPOCALCEMIEI POSTTIROIDECTOMIE

Autorii urmăresc compararea frecvenţei hipocalcemiei după rezecţia tiroidiană la pacienţii basedowieni cu sau fără oftalmopatie (OB). Un lot de 153 pacienţi operaţi pentru boală Basedow au fost clasificaţi în funcţie de gravitatea afectării oculare în trei grupuri, conform clasificării NOSPECS. Subgrupul I a fost alcătuit din 70 pacienţi fără OB, subgrupul II din 63 patients with OB moderată iar 20 pacienţi din subgrupul III prezentau OB severă. Incidenţa hipocalcemiei permanente a fost semnificativ mai mare în grupul III cu OB severă, comparativ cu grupul I, fără OB (p=0.004). Deşi hipocalcemia posttiroidectomie pare a fi un fenomen cu geneză multifactorială, acest studiu semnalează un risc crescut de apariţie a hipocalcemiei postoperatorii la pacienţii cu OB severă. Aceşti pacienţi trebuie operaţi în centre chirurgicale specializate în chirurgia endocrină. (Hassan I, Dănilă R, Maurer E, Osei-Agymang T, Zielke A. Severe Graves' Ophthalmopathy may be a Risk Factor for the Development of Postthyroidectomy Hypocalcaemia. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008 PubMed ID 18523918).

R. Dănilă

NOI MECANISME CARE STAU LA BAZA FIBROZEI HEPATICE ŞI NOI TENDINŢE DE TRATAMENT

Îmbunătăţirile substanţiale în tratamentul bolilor cronice hepatice au accentuat interesul privind mecanismele care stau la baza fibrozei hepatice şi a abordării ei terapeutice. Activarea celulelor rezidente hepatice în celule proliferative, contractile şi fibrogenice în afecţiunile hepatice rămâne modalitatea dominantă de abordare terapeutică. În acelaşi timp, s-au înregistrat progrese în alte arii de cercetare : 1) identificarea unor populaţii fibrogenice diferite de celulele rezidente stelate, de exemplu, fibroblaştii portali, fibrocitele sau celulele derivate din epiteliul mezenchimal, 2) recunoaşterea implicării celulelor stelate în inflamaţia hepatică şi imunitate, 3) eludarea multiplelor căi de control ale expresiei genice în timpul activării celulelor stelate incluzând mecanisme transcripţionale şi post-transcipţionale, 4) recunoaşterea mecanismelor specifice care stau la baza fibrozei hepatice, 5) reconsiderarea macrofagelor hepatice ca determinanţi ai degenerării matriciale şi 6) apariţia ideii că celulele hepatice stelate pot influenţa atât regenerarea cât şi carcinigeneza hepatică. Implicaţiile clinice ale acestor descoperiri sunt evidente şi vor avea un impact din ce în ce mai pronunţat asupra modalităţilor de abordare a pacienţilor cu boli cronice hepatice (Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterol* 2008, 134 (6) : 1639-1814).

Ecaterina Enache

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

SEPTAL MYOMECTOMY AND CORONARY ARTERY BYPASS IN ONE CASE OF HYPERTROPHIC OBSTRUCTIVE CARDIOMYOPATHY

L. Stoica[1], T. Georgescu[2], E. Bitere[1], Sînziana Patrulea[1], Gabriela Omete[2]
Cardiology Center Iaşi
1. Department of Cardiovascular Surgery
2. Department of Cardiology

SEPTAL MYOMECTOMY AND CORONARY ARTERY BYPASS IN ONE CASE OF HYPERTROPHIC OBSTRUCTIVE CARDIOMYOPATHY (Abstract) : Surgery of the hypertrophic cardiomyopathy remains controversial. The safest procedure and the simples procedure is the mitral valve replacement. Septal myomectomy is difficult because of the poor surgical exposure and complications : incomplete resection, complete heart block, ventricular septal defect. **Case presentation** : A 56 years old man with hypertrophic cardiomyopathy, double coronary stenosis and grade II mitral regurgitation by systolic anterior motion was long time stable under treatment with b-blockers. He developed angina and the circumflex and the left anterior descending arteries were stented. Re-stenosis developed in the left anterior descending stent and the patient was referred to surgery. The intraventricular gradient was 80 mmHg and the maximal septal thickness 28 mm. He was successfully treated by septal myomectomy and bypass on the left anterior descending artery with the left internal thoracic artery. Perioperative transesophageal echography was used to establish the limits of the surgical resection and to control the remnant gradient. The patient is asymptomatic 6 months after the procedure, he has a 30 mmHg remnant gradient and a grade I mitral regurgitation. **Conclusion** : Septal myomectomy is a safe alternative to mitral valve replacement for hypertrophic cardiomyopathy. This procedure must be guided by perioperative transesophageal echography to avoid incomplete resection. **Key words** : SEPTAL MYOMECTOMY, HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY, TRANSESOPHAGEAL ECHOGRAPHY

The treatment of the obstructive hypertrophic cardiomyopathy (OHCM) remains controversial. B-blockers or verapamil could be efficient. Septal alcoholization or pacing are non-surgical alternatives. The left ventricular outflow tract obstruction (LVOTO) is the result of the midventricular hypertrophy and of the systolic anterior motion (SAM) of the anterior mitral valve (MV) leaflet. The systolic blood flow is rerouted by the midventricular hypertrophy on the MV direction and provokes the SAM. The LVOTO is a dynamic process favorized by the anterior displacement of the mitral subvalvular apparatus (the insertion of the anterior papillary muscle reach the apex) and by enlarged mitral leaflets (1). The understanding of the physiopathology of the OHCM contributed to the evolution of the surgical methods. The first surgical treatment was the MV replacement. Morrow introduced the septal myomectomy in 1978 (2). The extended myomectomy on the ventricular apex and the release of the papillary muscles was introduced by Messmer in 1994 (3), and a combined method plus anterior MV plication was published in 2005 (4). A particularly case is the anomalous papillary muscle insertion directly into the anterior mitral leaflet when the septal myomectomy is not indicated and the standard treatment is the MV replacement (5).

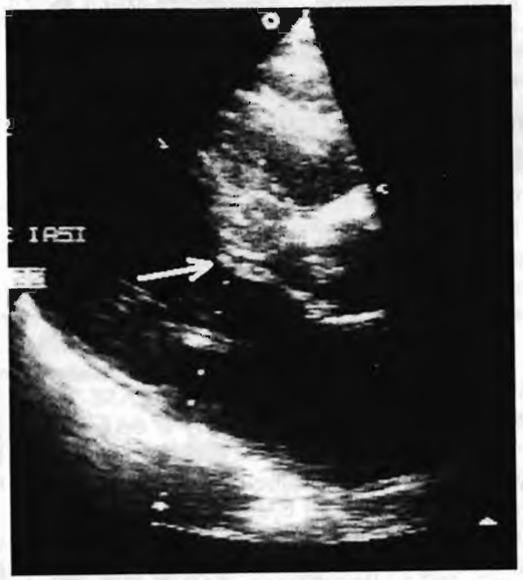


Fig. 1. The echographic preoperative aspect. White arrow : the septal bulge in the left ventricular outflow tract

The safest and the simplest surgical procedure is the MV replacement, but it has the disadvantages of a mechanical prosthesis. Septal myomectomy is difficult because of the poor surgical exposure, imprecision in the amount of the septum to remove, abnormalities of the MV and complications : incomplete resection, complete heart block, ventricular septal defect.

CASE PRESENTATION

A 56 years old man was diagnosed in 1996 with OHCM and treated with b-blockers. In January 2005 he developed angina and lesions on the circumflex and left anterior descending (LAD) arteries were dilated and stented. Four months after the procedure he developed re-stenosis in the LAD stent which was re-dilated. The result was a 75% persistent stenosis. The patient had instable angina on maximal medical treatment and a grade II mitral regurgitation by complete systolic anterior motion (SAM). The posterior mitral annulus was calcified. The patient was referred to surgery and treated by septal myomectomy and bypass on the LAD artery with the left internal thoracic artery (LITA).

Perioperative transesophageal echography (TEE) was used to establish the limits of the surgical resection and to control the remnant gradient. The intraventricular gradient was 80 mmHg. The septal hypertrophy started and finished at 10 mm and respectively 40 mm below the aortic annulus. The maximal septal width was 28 mm. A complete SAM provoked the contact of the anterior MV leaflet with the ventricular septum in systole. The papillary muscles were normally inserted (by chords) on the MV free margin.

The initially surgical plan was to bypass the LAD with LITA, to make a septal resection and eventually to replace the MV with a mechanical prosthetic valve to be sure to eliminate a remnant gradient.

After harvesting the skeletonized LITA, a classical extracorporeal circulation was established with two venous cannulas and an aortic one. The myocardial protection was made by antegrad and retrograd cardioplegia with cool hyperpotasemic blood, initially 1000ml and 400ml repeated each 20 minutes, and left venting. The LAD by-pass was made first. An oblique transversal aortotomy was made at the level of the sinotubular junction. The septum was explored through the aortic valve by gently retracting the aortic cusps with deep and narrow retractors. The septum protruded into the left ventricular cavity and we found a white endocardial area corresponding to the contact zone with the anterior leaflet of the MV in SAM. The chords were normally inserted. The septal bulge was pushed away by the weight of the right ventricle and stay sutures were use to expose it. A piece of 10 mm widely and 25 mm highly septal muscle was resected with the scalpel, focused on the white endocardial septal area. The aortotomy was closed and the MV was explored by a left atriotomy. The valve was com-

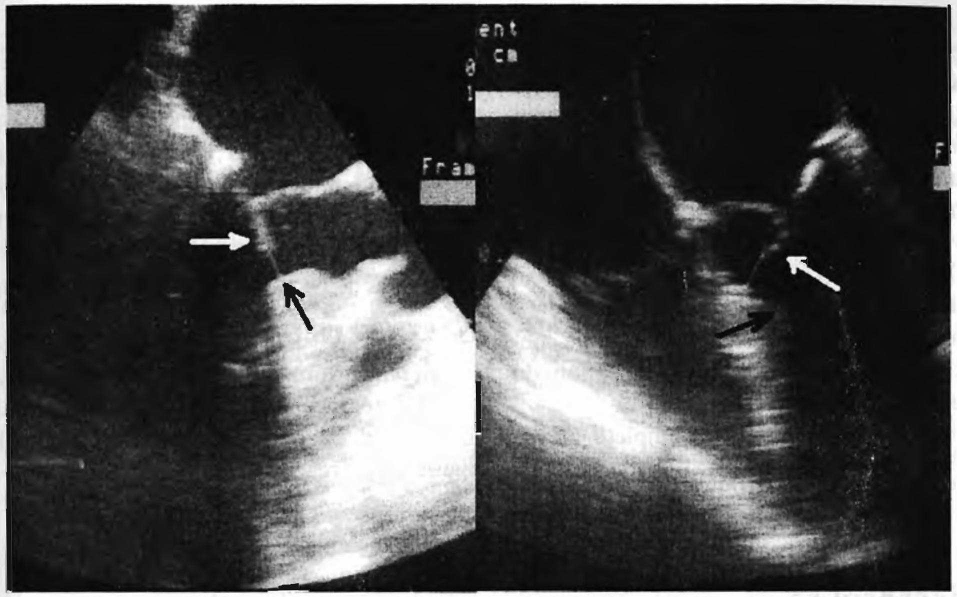


Fig. 2. Postoperative echographic aspect after the first resection (left) and the supplementary resection (right). White arrow : remnant systolic anterior motion of the anterior mitral leaflet responsive for a grade I mitral regurgitation ; Black arrow : the septal bulge resection

pletely normal except a small posterior annulus calcification and there was no mitral regurgitation at the test with saline serum. We decide to preserve the MV and to measure the remnant gradient. After declamping, the extracorporeal circulation was stopped with the cannulas left in place and the gradient was measured by transesophagel echography after a dobutamine bolus. The initially 80 mmHg intraventricular gradient was reduced to 40 mmHg and we decide to make a supplementary resection. The heart was arrested again and supplementary resection was done with a rongeur because technically was more difficult to grasp and resect a single piece of septum. The final remnant gradient was 30mmHg which is accepted as satisfactory by the authors (4). Postoperative the patient recovered well and the angina disappeared. Echography found a stable intraventricular gradient, a normal aortic valve, a grade I mitral regurgitation provoked by a remnant SAM which interested just a limited portion of the anterior mitral leaflet (fig.2), and no septal defect. A left heart block was installed. The patient is asymptomatic at 6 months postoperatively.

COMMENT

Septal alcoholization is a non-surgical method to treat CMHO. Alcohol is injected in a septal artery and provokes the necrosis of the septal muscle. This procedure is possible only for big septal arteries which supply the hypertrophic septal bulge and the result depends of the septal collaterals. In our case the proximal septal arteries were obstructed by stents and the alcoholization was technically unfeasible. Surgery of the CMHO evolved from the MV replacement to the extended septal myomectomy and associated MV plasty. In our experience septal resection gives a good result if a complete resection is done. There are some principles to respect in CMHO surgery :

1. the per operative TEE is essential to exactly map the limits of the surgical resection for septal myomectomy ;

2. the septal width and the exactly distance between the aortic annulus and the proximal and distal limit of the mid ventricular bulge must be measured before arresting the heart and these measurements are strictly respected on the empty heart to avoid incomplete resection or ventricular septal defect;
3. the resection should be also carried to the apex and release of the papillary muscle insertion should be done because a limited subaortic resection do not relieve the LVOTO;
4. the resection must be complete at the first time because re-exposure and re-resection are difficult;
5. the result must be controlled by TEE after the withdrawal of the bypass but before the removal of the cannulas, under dobutamine bolus; supplementary resection under cardiopulmonary bypass should be done for persistent gradient greater than 30mmHg (4) and in our case was an effective procedure.

CONCLUSION

Septal myomectomy is a safe alternative to MV replacement. This procedure must be guided by perioperative TEE to avoid incomplete resection.

REFERENCES

1. Sherrid MV, Chaudhry FA, Swistel DG. Obstructive hypertrophic cardiomyopathy: echocardiography, pathophysiology, and the continuing evolution of surgery for obstruction. *Ann Thorac Surg* 2003; 75 (2): 620-632.
2. Morrow AG. Hypertrophic subaortic stenosis. Operative methods utilized to relieve left ventricular outflow obstruction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1978; 76 (4): 423-430.
3. Messmer BJ. Extended myectomy for hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *Ann Thorac Surg* 1994; 58 (2): 575-577.
4. Balaram SK, Sherrid MV, Derose JJ Jr, Hillel Z, Winson G, Swistel DG. Beyond extended myectomy for hypertrophic cardiomyopathy: the resection-plication-release (RPR) repair. *Ann Thorac Surg* 2005; 80 (1): 217-223.
5. Maron BJ, Nishimura RA, Danielson GK. Pitfalls in clinical recognition and a novel operative approach for hypertrophic cardiomyopathy with severe outflow obstruction due to anomalous papillary muscle. *Circulation* 1998; 98 (23): 2505-2508.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

ANEVRISM ADEVĂRAT POSTTRAUMATIC DE ARTERĂ FEMURALĂ. ENTITATE CLINICĂ RARĂ

C. Moroşanu, C.E. Roată, S. Luncă
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Clinica de Urgenţe Chirurgicale
Spitalul Clinic de Urgenţe "Sf. Ioan" Iaşi

TRUE POSTTRAUMATIC FEMORAL ARTERY ANEURYSM, VERY RARE CLINICAL ENTITY. Traumatic etiology in aneurysms is very rare. After arterial trauma we usually find pseudo aneurysms. True aneurysms are due to deterioration of the arterial wall in small and longterm repetitive trauma. Pseudo aneurysms are usually described on radial and cubital artery in patients who work with vibrating tools ("hypothenar and thenar hammer syndrome") and on axilar artery in those who use axilar crutches. We present a case of a woman with a true aneurysm of the femoral artery developed due to repetitive trauma of the femoral region at working place. The patient presented as an emergency, with ruptured aneurysm and she underwent an emergency operation. The diagnosis was established late by histopathological examination. This is the first case of posttraumatic true aneurysm with this location. True aneurysms should be considered in repetitive trauma regardless of anatomical region. **Key words**: TRUE ANEURYSM, POSTTRAUMATIC, FEMORAL ARTERY

Anevrismele arteriale adevărate de etiologie traumatică reprezintă o entitate clinică rară (1,2). Secundar traumatismelor arteriale apar de obicei pseudoanevrismele. Ele se dezvolta secundar unui hematom ce comunică cu lumenul arterial şi care se endotelizează în timp (2). Anevrismele adevărate pot apărea ca rezultat al unor traumatisme mici şi repetate, ce modifică în timp structura peretelui arterial (1,2,3).

PREZENTAREA CAZULUI

Prezentăm cazul unei paciente în vârstă de 31 ani, din mediul urban, nefumătoare, ce se internează în serviciul nostru cu o formaţiune pulsatilă voluminoasă la nivelul regiunii inghinale drepte. Tegumentele supraiacente regiunii prezintă modificări inflamatorii (eritem, temperatură locală ridicată) şi în partea internă apar semne de necroză tegumentară (fig. 1). Pacienta descrie o impotenţă funcţională relativă a membrului inferior drept, iar pe plan general frisoane şi febră. Clinic, formaţiunea era localizată în regiunea inghino-femurală dreaptă, bine delimitată, cu forma ovoidală cu axul mare oblic, cu dimensiuni de 10/8cm. Prezenta durere spontană şi la palpare, limitând flexia coapsei pe abdomen. Din anamneză aflăm că pacienta lucra de 7 ani la o fabrică de prelucrare a lemnului, preluând de pe o banda rulantă bucăţi de lemn, folosind regiunea inghino-femurală dreaptă pentru a opri înaintarea acestora. De aproximativ doi ani a sesizat apariţia unei formaţiuni de mici dimensiuni, pulsatile la nivelul regiunii inghino-femurale drepte, care a crescut lent până la dimensiunile actuale. În urmă cu 5 zile apar semne inflamatorii locale, iar de 48 ore modificările de necroză tegumentară, însoţindu-se şi de semne generale de inflamaţie. La explorarea echo-Doppler

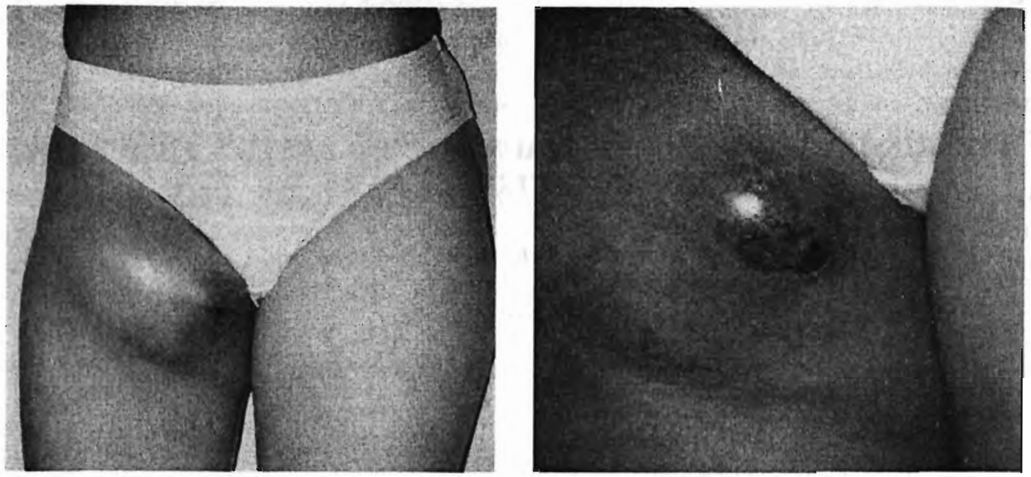


Fig. 1. a. aspectul anevrismului ; **b.** necroza cutanată

se descrie anevrismul, cu diametrul de aprox 6 cm şi prezenţa unei colecţii lichidiene în ţesuturile moi perianevrismale, ca semn al rupturii anevrismale. După o pregătire minimă preoperatorie s-a intervenit chirurgical sub anestezie peridurală. S-au folosit doua incizii : una în fosa iliaca dreaptă (de aproximativ 10 cm), pentru abordul arterei iliace comune drepte şi una inghinală (de aproximativ 15 cm), excizând şi zona cu tegumentul necrozat. După clampajul arterei iliace comune şi a celei externe s-a intervenit la nivelul coapsei. La incizia tegumentului s-a evacuat un lichid cu tentă purulenta (din care se recoltează material pentru culturi microbiene), după care se evidenţiază cămaşa anevrismului. Corespunzător zonei de necroză tegumentară s-a identificat o ruptura de aproximativ 1 cm în peretele anevrismului. După deschiderea anevrismului pe faţa anterioara şi explorare endoanevrismală s-a constatat că acesta cuprindea artera femurală comună în întregime, primii 3-4 cm ai arterei femurale superficiale şi originea arterei femuralei profunde. De asemenea, colateralele arteriale din acea zonă erau dilatate la origine. După excizia parţială a anevrismului şi ligatura colateralelor mici din acea zonă s-a restabilit continuitatea arterială folosind un grefon de venă safenă inversat, recoltat de la acelaşi membru şi reimplantarea arterei femurale profunde în grefon. Evoluţie postoperatorie simplă cu pulsuri distale prezente şi externare în ziua a 8-a postoperator. Controalele la 1 şi 6 luni normale. Examenul histopatologic (fig. 2) al peretelui anevrismal a arătat prezenţa tuturor straturilor peretelui arterial, ceea ce stabileşte diagnosticul de anevrism adevărat.

DISCUŢII

Localizarea femurală a anevrismelor arteriale periferice, ocupa locul al doilea ca frecvenţă după cea poplitee (2). Etiologia lor este degenerativă (aterosclerotică) în majoritatea cazurilor dar poate fi şi inflamatorie (boala Takayasu, Kawasaki etc.), afecţiuni ale ţesutului conjunctiv (sindrom Marfan, Ethler-Danlos), infecţioasă (bacteriene sau micotice) şi, în mod excepţional, traumatică.

Etiologia traumatică se întâlneşte de obicei în cazul pseudoanevrismelor, ce se produc ca urmare a unei soluţii de continuitate la nivelul arterei, ce alimentează un hematom periarterial. În timp, la nivelul hematomului se formează o cavitate ce comunică cu lumenul vasului şi care devine tapetată cu endoteliu. În structura peretelui nu se întâlnesc toate straturile peretelui arterial. Anevrismele adevărate de etiologie traumatică au fost descrise la pacienţi în jurul vârstei de 50 de ani, de obicei bărbaţi, ce lucrează cu instrumente care vibrează, de tipul ciocanelor pneumatice („the hypothenar hammer syndrome") (1), aceste traumatisme mici şi repetate ducând la degradarea peretelui arterial. Anevrisme adevărate au mai fost descrise la purtătorii de cârje axilare, tot secundar traumatismelor repetate. Din punct de vedere microscopic se observă prezenţa tuturor straturilor peretelui arterial la nivelul anevrismului, modificări caracteristice displaziei fibromusculare (hiperplazia intimei şi muscularei, distrucţia laminei elastice), tromboze intraanevrismale determinate de leziuni ale intimei şi fluxul turbionar la acest nivel. În literatură sunt raportate aproximativ 300 cazuri de anevrisme adevărate posttraumatice (2,3,4,5, 6,7,8) localizarea femurala neîntâlnindu-se în nici o situaţie.

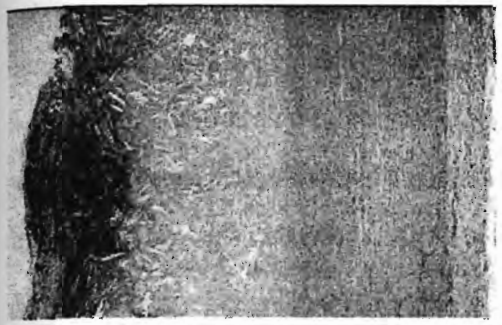


Fig. 2. Aspectul histopatologic al peretelui anevrismal

În cazul de faţă, etiologia este reprezentată tot de traumatismele mici şi repetate, pe o perioadă de 7 ani, produse la nivelul arterei femurale de bucăţile de lemn ce veneau pe banda rulantă. În cazul prezentat evoluţia acestui anevrism femural a fost până la ruptură, produsă atât datorită dimensiunilor crescute (diametrul de 5-6 cm) cât şi datorită traumatismelor ce au continuat. Intervenţia chirurgicală este indicată în cazul anevrismelor complicate şi în cazul celor necomplicate mai mari de 3-4 cm (2,3,6). Intervenţia chirurgicala în această situaţie a fost de urgenţă mai ales datorită necrozei cutanate şi fenomenelor inflamatorii, existând riscul major al unei hemoragii externe fulminante.

CONCLUZII

1. Anevrismele arteriale adevărate postraumatice sunt rar descrise în literatură, cele mai frecvente localizări sunt extremităţile distale ale arterei ulnare şi radiale precum şi artera axilară.
2. Etiopatogenia acestora presupune existenţa traumatismelor repetate de intensitate mică la nivelul peretelui arterial care determină modificări degenerative ale acestuia.
3. În cazul în care se întrunesc condiţiile locale (prezenţa traumatismului închis arterial repetat), este posibilă apariţia acestor anevrisme şi la nivelul altor artere.
4. Tratamentul consta în ablaţia anevrismului şi restabilirea continuităţii cu interpoziţie de grefon, vena safena interna fiind de preferat, mai ales când există şi fenomene inflamatorii locale.
5. Trebuie avut în vedere de asemenea şi îndepărtarea sursei traumatice şi schimbarea locului de muncă.

BIBLIOGRAFIE

1. Conn J Jr, Bergan JJ, Bell JL : Hypothenar hammer syndrome : Post-traumatic digital ischemia. *Surg* 1970 ; 68 : 1122-1128.

2. Van Bockel JH, Hamming JF. Lower extremity aneurysms. In: Rutherford C editor. *Vascular Surgery*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005, 1534-1549.
3. Marie I, Hervé F, Primard E et al. Long-term follow-up of hypothenar hammer syndrome: a series of 47 patients. *Medicine (Baltimore)* 2007; 86 (6): 334-343.
4. Carlesi R, Casini A, Bonalumi F. Post-traumatic aneurysm of the hand: 3 clinical cases. *Med Lav* 2000; 91 (2): 142-147.
5. Zyluk A, Walaszek I. Post-traumatic aneurysm of the ulnar artery—a report of 2 cases. *Chir Narzadow Ruchu Ortop Pol* 2005; 70 (5): 373-377.
6. Rob CG, Standeven A. Closed traumatic lesion of the axillary and brachial arteries. *Lancet* 1956; 1: 597-599.
7. Brooks A, Fowler B. Axillary artery thrombosis after prolonged use of crutches. *J Bone Joint Surg* 1964; 46A: 863-868
8. Abbot WM, Darling RC. Axillary artery aneurysms secondary to crutch trauma. *Am J Surg* 1973; 125: 515-520.

NOUTĂŢI

RECEPTORII CANABINOIZI ÎN COMPLICAŢIILE ACUTE ŞI CRONICE ALE ATEROSCLEROZEI

Ateroscleroza (ATS) este o boală inflamatorie cronică care reprezintă principala cauză a infarctului miocardic şi cerebral. Un număr din ce în ce mai mare de date sugerează faptul că semnalizarea canabinoidă joacă un rol fundamental în dezvoltarea ATS şi manifestările sale clinice. Astfel, receptorii CB2 au rol protector faţă de ischemia miocardică şi sunt implicaţi în modularea chemotactică, esenţială pentru leucocite în timpul inflamaţiei. Activarea mediată de delta-9-tetrahidrocanabinol (THC) inhibă progresia plăcii aterosclerotice prin căi dependente de CB2. Cu toate că CB1 şi CB2 sunt exprimate şi la nivelul trombocitelor, implicarea lor în formarea trombusului este încă controversată. În timp ce unele date sugerează faptul că receptorii CB1 au un rol relevant în neuroprotecţie după infarctul cerebral ischemiant, studii recente indică faptul că neuroprotecţia nu este in directă legătură cu stimularea CB1; de asemenea, a fost observat şi un efect protector obţinut prin blocarea CB1. În plus, receptorii CB1 la nivel vascular şi miocardic contribuie la modularea presiunii arteriale şi a frecvenţei cardiace. Se poate lua în considerare deci modularea farmacologică a sistemului endocanabinoid ca şi strategie terapeutică pentru ATS în viitor. Pentru acest motiv, este important a înţelege mai bine mecanismele complexe ale semnalizării endocanabinoide precum şi potenţialele consecinţe ale modulării sale farmacologice deoarece ar putea avea atât efecte pro cât şi contra (Mach F, Montecucco F, Steffens S. Cannabinoid receptors in acute and chronic complications of atherosclerosis. *Br J Pharmacol* 2008; 153 (2): 290-298.)

Ioana Dana Alexa

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2008 – vol. 112, nr. 3

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ACTUALITĂŢI**

NOI PERSPECTIVE PRIVIND MICROCIRCULAŢIA CORONARIANĂ

Carmen Ginghină, Magdalena Patriche, R. Chreih, B.A. Popescu, D. Deleanu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină
Clinica de Cardiologie a Institutului de Boli Cardiovasculare "Profesor C. C. Iliescu"

NEW APPROACHES IN CORONARY MICROCIRCULATION (Abstract): The last decades, coronary microcirculation has become a very important territory because of its role in coronary circulation physiology and pathophysiology. Only its implication in coronary artery disease was known at the beginning, but subsequently its role in many others diseases was shown. The nontraditional pathophysiological construct sustains that myocardial microcirculatory dysfunction is the primary event, and the atherosclerotic plaque rupture or erosion is the secondary event. In some instances, the coronary microvascular dysfunction may be an epiphenomena, an important marker of risk or even a cause, thus becoming therapeutic target. **Key words**: CORONARY MICROCIRCULATION, CORONARY FLOW RESERVE, MYOCARDIAL MICROCIRCULATORY DYSFUNCTION

Circulaţia arterială coronariană este alcătuită din două artere mari epicardice ce se desprind de la nivelul aortei ascendente şi se bifurcă în artere cu diametru din ce în ce mai mic formând o reţea arborescentă la nivelul miocardului, reţea vizualizată prin radiaţie sincrotron μCT (1).

Mittal et al. au realizat reconstrucţia computerizată a vascularizaţiei coronariene (micro- şi macrocirculaţiei) pe baza datelor morfometrice măsurate anterior şi au realizat un model al inimii normale ca sistem de referinţă pentru evaluarea fiziologiei şi fiziopatologiei circulaţiei coronariene; microcirculaţia nefiind privită separat, ci integrată în arborele coronarian (2). Astfel, s-a arătat că microcirculaţia coronariană este teritoriul principal pentru schimburile transcapilare de oxigen şi nutrienţi către ţesuturi şi de dioxid de carbon şi produşi de metabolism către circulaţia sanguină, teritoriu în care celulele endoteliale joacă un rol major în reglare, transducţia semnalului, proliferare şi reparare.

Măsurătorile morfometrice ale teritoriilor reprezentative pentru organism (cardiac, pulmonar şi mezenteric) au condus la concluzia că microcirculaţia reprezintă 40-50% din volumul total de sânge şi 90% din rezistenţa periferică sanguină totală, aceste particularităţi ale microcirculaţiei demonstrând rolul ei de sistem de capacitanţă şi de rezistenţă ce îl surclasează pe cel al macrocirculaţiei în ceea ce priveşte controlul circulaţiei sanguine (3).

DEFINIŢIE

Microcirculaţia nu este foarte clar definită, existând opinii diferite privind delimitarea sa. Există o definiţie „funcţională" conform căreia microcirculaţia constituie locul principal al schimburilor între vase şi ţesuturi (criticată întrucât se referă numai la capilare) şi o definiţie „anatomică", ce nu precizează nivelul de la care se poate discuta de microcirculaţie. P.G. Camici şi F. Crea consideră că microcirculaţia include doar arteriole şi prearteriole cu diametrul sub 500 µm(4), T. Komaru include în acest teritoriu capilare, microvase arteriale și venoase cu diametrul sub 300 µm (5), iar Jen-Shih Lee include capilare, arteriole și venule cu diametrul sub 250 µm (1).

În cadrul acestui articol ne vom referi la microcirculație ca fiind teritoriul ce include toate vasele cu diametru < 500 µm, fiind alcătuit din prearteriole (100-500 µm), arteriole intramurale (100-8 µm), capilare (< 8 µm) și venule (< 500 µm).

Arterele conductive, prearteriolele și arteriolele constituie o subdivizie funcțională a sistemului arterial coronarian. În modificări ale fluxului sanguin, arterele coronare epicardice și arteriolele proximale au tendința de a menține nivelul tensiunii arteriale prin intermediul dilatației dependente de endoteliu (6). Scăderea presiunii este neglijabilă de-a lungul arterelor conductive, ușoară la nivelul prearteriolelor și semnificativă la nivelul arteriolelor.

Arterele conductive și prearteriolele proximale sunt responsabile pentru dilatația dependentă de flux. Arteriolele distale sunt sensibile la modificările presiunii intravasculare și responsabile de reglarea fluxului coronarian. Arteriolele sunt sensibile la eliberarea produșilor de metabolism, spre deosebire de prearteriole, datorită situării extramiocardice și a grosimii pereților (4).

Vasele coronariene sunt înconjurate de miocite, care influențează mecanic fluxul coronarian, diametrul arteriolelor și venulelor intramurale și subendocardice scăzând cu 10-20% în timpul sistolei, spre deosebire de arteriolele subepicardice, cu diametrul puțin influențat de ciclul cardiac.

În ceea ce privește vascularizația, inima este diferită față de celelalte organe, fluxul la nivelul arteriolelor coronariene fiind predominant diastolic, în timp ce la nivelul venulelor, exclusiv sistolic. Totuși, în timpul sistolei, există un mic flux coronarian retrograd (fenomen *slosh*), amplificat de stenozele arteriale (1).

EVALUARE

Nu se cunoaște, până în prezent, nici o tehnică exploratorie pentru vizualizarea directă (*in vivo*) a microcirculației coronariene la oameni. Se utilizează, însă, diverse tehnici ce realizează cuantificarea directă și indirectă a fluxului sanguin la acest nivel.

În cadrul evaluării microcirculației, rezerva de flux coronarian (RFC) reprezintă o metodă aparte de evaluare, ea indicând capacitatea de atingere a fluxului sanguin maxim atât la nivelul coronarelor epicardice cât și la nivelul microvascularizației miocardice. RFC este definită ca raportul dintre fluxul coronarian în vasodilatația maximă și cel de la nivelul perfuziei bazale. La pacienții ce prezintă o afecțiune coronariană se constată o reducere a RFC direct proporțională cu severitatea stenozei, iar la pacienții fără afecțiune coronariană RFC este un marker al funcției microcirculației. RFC se evaluează fie prin termodiluție, fie prin evaluare intracoronariană Doppler a velocității fluxului, fie prin măsurarea diferenței de presiune intracoronariene. Pentru măsurători se folosesc ghiduri de angiografie cu diferite tipuri de senzori în vârf. Pentru obținerea vasodilatației maxime, se folosesc agenți farmacologici (Papaverină intracoronarian, Adenozină intracoronarian, Adenozină intravenos). O valoare a RFC sub 2.0 este considerată anormală (4).

O alta metodă pentru evaluarea perfuziei miocardice este indexul de rezoluție al supradenivelării segmentului ST, un predictor fie independent al mortalității și mărimii infarctului, fie asociat scorului TIMI „blush" sau TIMI „frame count", considerat o evaluare indirectă a DMC (11) întrucât pacienții cu același scor TIMI și cu acest index mai mic au avut o evoluție mai bună.

DISFUNCȚIA MICROCIRCULAȚIEI CORONARIENE

Mecanismele patogenice sunt structurale, funcționale și extravasculare.

TABELUL I

Tehnici de evaluare a microcirculației coronariene

Evaluare indirectă	*Evaluare directă*
Rezerva de flux coronarian (Termodiluție sau Doppler intracoronarian)	Rezerva de flux coronarian (Termodiluție sau Doppler intracoronarian)
EKG (index de rezolutie ST)	PET (7)
TIMI „FRAME COUNT"	RM/ CT (8, 9)
	Ecocardiografia miocardică de contrast (10)
	TIMI „BLUSH"

În cazul *modificărilor structurale*, amintim :

- obstrucția luminală dată de microembolizarea din sindromul coronarian acut (SCA) sau de cea aparută dupa recanalizare
- infiltrarea peretelui vascular dată de boli infiltrative cardiace (ex : cardiomiopatia Anderson-Fabry)
- remodelarea vasculară din cardiomiopatia hipertrofică (CMH), hipertensiunea arterială (HTA)
- rarefacția vasculară și fibroza perivasculară din stenoza aortică, HTA.

Dintre *modificările funcționale* enumerăm :

- disfuncția endotelială ce apare în cazul fumatului, dislipidemiei, diabetului
- disfuncția celulelor musculare netede din CMH, HTA
- disfuncția autonomă ce apare în cadrul recanalizării coronariene.

În ceea ce privește *modificările extravasculare*, acestea se referă la :

- compresia extramurală din cadrul stenozei aortice, CMH, HTA
- scăderea timpului diastolic de perfuzie din stenoza aortică.

Importanța acestor mecanisme variază în funcție de condițiile clinice asociate, cu mențiunea că multe din ele pot coexista la același pacient.

Clasificarea clinică a DMC (4) cuprinde :

1. DMC în absența bolii coronariene obstructive sau bolii miocardice
2. DMC în prezența bolilor miocardului
3. DMC în prezența bolii coronariene obstructive
4. DMC iatrogenă

1. DMC în absența bolii coronariene obstructive sau a afectării miocardice apare la pacienții cu factori de risc cardiovascular unde evaluarea disfuncției coronariene se poate realiza prin aprecierea noninvazivă a rezervei de flux coronarian, fiind în parte reversibilă prin tratamentul factorilor de risc ca :

- fumatul (afectează circulația coronariană și periferică, în parte datorită creșterii stresului oxidativ ; în acest caz este util tratamentul cu antioxidanți)
- dislipidemia (este indicată terapia care să reducă toate fracțiunile lipidice)
- diabetul (asociază frecvent obezitate, dislipidemie, HTA, favorizează tromboza și vasoconstricția, stimulează sistemul nervos simpatic)
- inflamația, stresul oxidativ (evidențiate prin nivele crescute ale inhibitorului 1 al activatorului de plasminogen PAI-1)
- sindromul X coronarian.

Definiția clasică a sindromului X coronarian include angina de efort tipică, subdenivelare de segment ST la testul de efort EKG și artere coronare normale angiografic, în absența altor boli cardiace sau sistemice (ex : HTA, diabet), care influențează funcțiile endoteliului vascular (12).

Aceasta definiție este intens criticată întrucât testul de efort EKG poate fi negativ la pacienții cu boala coronariană microvasculară, în condițiile existenței altor argumente pentru ischemie (ex : modificări ale segmentului ST la monitorizarea Holter sau la teste farmacologice de stress, defecte de perfuzie reversibile la scintigrama miocardică de efort). În plus, pacienţii cu HTA şi diabet, nu pot fi excluşi, deoarece multi pacienţi cu sindrom X coronarian prezentau HTA uşoară, alterarea testului de toleranţă la glucoză sau rezistenţă la insulină şi fiindcă s-a dovedit existenţa altor factori de risc pentru disfuncţia endotelială (obezitatea, fumatul, dislipidemia, inflamaţia).

Astfel, s-a propus o noua definiţie care include urmatoarele criterii: angină tipică, argumente pentru ischemie miocardică sau reducerea rezervei de flux coronarian spontan sau în timpul anginei (13), artere coronare normale sau aproape normale angiografic şi absenţa altor boli cardiace specifice (ex: angina variantă, cardiomiopatii, valvulopatii). În cazul suspiciunii etiologiei ischemice a sindromului X coronarian (angină pectorală cu subdenivelare ST la efort şi reducerea rezervei de flux coronarian), s-a propus utilizarea denumirii de angină microvasculară. Se observa lipsa suprapunerii termenilor: sindrom X coronarian, angină microvasculară şi angină cu coronare permeabile.

2. DMC în prezenţa unei boli a miocardului apare în contextul remodelării arteriolelor coronariene intramurale şi poate fi evidenţiată prin măsurarea rezervei de flux coronarian. În cazurile severe poate determina ischemie miocardică. Este întalnită în cazul cardiomiopatiilor primare (ex: cardiomiopatia dilatativă şi hipertrofică) şi secundare (ex: HTA, stenoza aortică, boli infiltrative - boala Anderson Fabry).

Pacienţii cu CMH prezintă frecvent semne şi simptome de ischemie miocardică în conditiile unor artere coronare permeabile. Studiile au aratat că RFC este scazută nu numai în zona hipertrofiată, ci şi în zonele mai puţin implicate în procesul de hipertrofie (ex: peretele liber VS), aspect concordant cu datele anatomopatologice obţinute din examinarea cordului pacienţilor cu CMH, arătandu-se o remodelare globală a arteriolelor intramurale (14). În plus, severitatea disfuncţiei microcirculaţiei este un factor independent de prognostic pe termen lung, privind mortalitatea pacienţilor cu CMH (15).

În cazul cardiomiopatiei dilatative (CMD), exista o RFC mult redusă (16). Studiile au arătat că în cazul acestor pacienţi poate exista DMC, nu şi a circulatiei sistemice, severitatea DMC constituind un factor de prognostic independent privind mortalitatea şi evoluţia spre insuficienţa cardiacă (4).

Deşi în ambele afecţiuni exista o RFC redusă, reducerea ei este mult mai accentuată în cazul CMD (17). La pacienţii aflati în faza dilatativă a CMH s-a constatat o RFC mai redusă faţă de pacienţii cu CMD (18).

Cardiomiopatia secundară HTA prezintă o RFC redusă, chiar în prezenţa coronarelor epicardice permeabile, prin remodelarea structurilor vasculare şi extravasculare, cu apariţia modificărilor hemodinamice coronariene.

Cardiomiopatia secundară stenozei aortice determină o RFC redusă prin modificările hemodinamice cardiace (presiune crescută în ventriculul stang, presiune de perfuzie coronariană scăzută, forţe de compresie extravasculară crescute), DMC corelându-se în acest caz cu aria valvulară aortică, supraîncarcarea hemodinamică, timpul de perfuzie miocardică şi mai putin cu masa ventriculului stâng.

DMC din cardiomiopatiile infiltrative se datorează depozitelor endoteliale şi fibrozei perivasculare. În boala Anderson Fabry exista depozite de glicosfingolipide în miocite, ţesut conductiv, endoteliu şi ţesut valvular (4).

3. DMC în prezenţa bolilor coronariene obstructive apare fie în contextul anginei pectorale stabile, fie a SCA cu sau fără supradenivelare de segment ST.

În angina pectorală stabilă DMC distal de stenoza coronariană are un rol important în determinarea şi variabilitatea pragului ischemic. Exista două mecanisme implicate în apariţia DMC: dilataţia subepicardică neadecvată în prezenţa unui consum sporit de oxigen miocardic şi constricţia prearteriolară şi arteriolară. Iniţial constricţia prearteriolară şi arteriolară apare ca un mecanism protectiv miocardic inducând vasoconstricţia şi permiţând menţinerea unei presiuni de perfuzie suficiente pentru asigurarea schimburilor transcapilare la nivelul zonelor miocardice subperfuzate. Ulterior însă, vasoconstricţia agravează ischemia miocardică, probabil datorită disfuncţiei microvasculare corelate cu procesul de ateroscleroză.

În SCA fără supradenivelare de segment ST, DMC distal de stenoza critică coronariană are un rol important în determinarea severităţii ischemiei miocardice, nu numai prin mecanismele implicate în cadrul anginei stabile, ci şi prin alte mecanisme (rezistenţa crescută la nivelul circulaţiei microvasculare, reversibilă la tratamentul antiagregant). În plus, gradul DMC este proporţional cu nivelul seric al proteinei C reactive şi al altor markeri independenţi ai inflamaţiei, sugerând că disfuncţia datorată prezenţei inflamaţiei este independentă de disfuncţia datorată altor factori de risc (19).

La pacienţii cu SCA cu supradenivelare de segment ST (STEMI) se constată o reducere a fluxului coronarian bazal suficient de severă pentru a induce tulburări de cinetică segmentară. DMC severă imediat postinfarct apare şi la nivelul vaselor normale angiografic, ulterior fiind implicată în apariţia fenomenului *no-reflow* la nivelul arterei recanalizate (20). Acest fenomen este caracterizat de pierderea integrităţii şi patenţei microvasculare în ciuda redeschiderii arterei implicate în infarct şi se datorează modificărilor patologice ischemice agravate de reperfuzie. Din punct de vedere patogenic a fost clasificat întro formă structurală şi una funcţională. În *forma structurală* componentele celulare ale pereţilor microvasculari din zona necrozată sunt afectate ireversibil; în *forma functională* patenţa microvaselor intacte anatomic este compromisă de pierderea motilităţii vasculare mediate de endoteliu, de afectarea terminaţiilor nervoase simpatice, de compresia extrinsecă prin edem interstiţial şi extravazarea plachetelor şi neutrofilelor.

4. DMC iatrogenă apare dupa recanalizarea arterelor coronare şi se datorează probabil vasoconstricţiei sau embolizării distale.

În angioplastie s-a constatat apariţia vasoconstricţiei atât la nivelul zonei dilatate cât şi în distalitate, sugerându-se că se datorează unei stimulari α-adrenergice, vasoconstricţia fiind reversibilă la administrarea postproceduralǎ de α-blocanţi. Este posibil ca vasoconstricţia cu recuperare lentă a funcţiei microcirculaţiei să fie implicată în cadrul ischemiei miocardice de stres după o angioplastie incheiată cu succes sau după bypass-ul aortocoronarian.

Embolizarea distală determină DMC la pacienţii supusi unei intervenţii de revascularizare miocardică interventională sau chirurgicală (21). Prin ruptura plăcii aterosclerotice, microfragmentele rezultate embolizează la nivelul microcirculaţiei determinând microinfarcte ce agravează prognosticul pe termen lung al acestor pacienţi (4).

ABORDAREA FIZIOPATOLOGICĂ MODERNĂ A DMC

Conceptul tradiţional. În ultimele două decenii s-a considerat ruptura sau eroziunea plăcii de aterom de la nivelul unei artere coronare epicardice, ulterior cu formare de tromb şi ocluzia completă a vasului lezat, ca leziune primară din SCA, leziunea secundară fiind la nivelul microcirculaţiei coronariene, „spectator inocent" în faza initială a SCA. Astfel, DMC este secundară SCA şi se datorează atât obstrucţiei mecanice cât şi funcţionale.

Obstrucţia mecanică se datorează embolizării distale a fragmentelor aterosclerotice care determină ocluzia arterelor intramiocardice mici răspunzatoare de apariţia microinfarctelor distale. Se explică astfel corelaţia strânsă dintre nivelul crescut al troponinei cardiace ca marker al injuriei miocardice şi prezenţa trombului şi a fluxului coronarian scăzut la pacienţii cu SCA. Prin utilizarea IVUS 3-D, s-a dovedit că reducerea volumului plăcii de aterom în timpul angioplastiei primare este asociată cu apariţia DMC. Toate aceste date sustin ipoteza embolizării distale în timpul efectuării angioplastiei.

Pentru a evita acest fenomen s-a propus utilizarea de dispozitive de protecţie coronariană, însă studiile efectuate au furnizat rezultate neconcludente. Explicaţia rezidă în morfologia specifică fiecarei leziuni şi a potenţialului variabil de embolizare în momentul efectuării angioplastiei, care prin apariţia DMC limitează potenţialul terapeutic al acestei proceduri (fig. 1).

În cazul *obstrucţiei funcţionale*, fragmentele aterosclerotice şi trombotice embolizate nu sunt inerte şi pot elibera factori bioactivi ce cresc severitatea DMC (ex: endothelina-1, factorul tisular). În plus, stresul oxidativ şi ischemia *per se* scad biodisponibilitatea oxidului nitric, agravând DMC.

La aceste modificări se adaugă cele datorate reperfuziei: alterarea performanţei contractile (stunning miocardic), alterarea viabilităţii (extensia infarctului), aritmii de reperfuzie şi disfuncţie endotelială (stunning vascular).

Acest concept are însă o serie de limite, constatându-se că studiile care urmăresc DMC la bolnavii cu STEMI, reperfuzate sau nu, au „design" defectuos (nu îşi propun să determine care este evenimentul iniţial) existând rupturi asimptomatice ale plăcilor de aterom, iar pacienţi cu aceeasi anatomie patologică coronariană au un spectru clinic extrem de diferit. De aceea, este important să avem în vedere că în cadrul SCA există placa vulnerabila, dar şi miocard vulnerabil cu microcirculaţie coronariană.

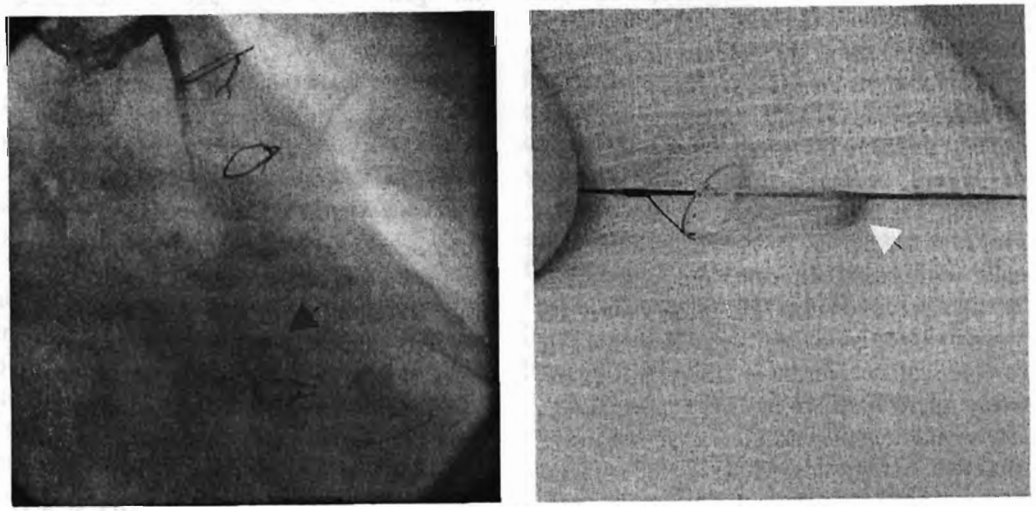


Fig. 1. Realizarea unei protecţii faţă de riscul embolizării distale în timpul unei angioplastii coronariene (stânga – plasarea filtrului intracoronarian în partea distală a coronarei ; dreapta – detritus reţinut în filtrul coronarian după angioplastie)

Conceptul fiziopatologic netradiţional al DMC. S-a constatat că în IMA exista o reducere cu 50% a fluxului sanguin global coronarian (inclusiv la nivelul arterelor coronare patente, „inocente"). Evenimentele coronariene sunt mai frecvente la cei cu coronare epicardice permeabile, dar cu RFC scazută.

Pacienţii cu factori de risc pentru DMC (dislipidemie, diabet) au un risc mai mare de a prezenta evenimente cardiovasculare, iar incidenţa leziunilor miocardice post PTCA este mai mică la cei cu medicaţie ce influenţează DMC (ex: statine, inhibitori ai enzimei de conversie ai angiotensinei – IECA). Toate aceste date sustin acest concept netradiţional care consideră că leziunea primară, în cazul SCA, este reprezentată de DMC (22).

Contraargumentele acestui concept (leziunile miocardice preced apariţia celor microvasculare, terapiile specifice pentru îmbunătăţirea microcirculaţiei în SCA au rezultate neconcludente pentru ameliorarea prognosticului) reclamă studii ulterioare pentru o evaluare corectă a mecanismelor DMC.

TRATAMENT

Pentru DMC nu există un tratament specific, ci unul adaptat situaţiei clinice. În general pacienţii cu boli coronariene prezintă factori de risc cardiovascular (fumat, dislipidemie, diabet zaharat, HTA) şi de aceea controlul eficient al bolii coronariene se realizează prin controlul factorilor de risc (tratament preventiv).

În cazul SCA se indică reperfuzia mecanică cât mai rapidă.

Terapia farmacologică indicată la pacienţii cu boală coronariană constă în utilizarea de donori de NO (nitroglicerină, nitroprusiat de sodiu, inhibitorii oxid nitric sintetazei inductibile), antagonişti de calciu, sensibilizatori ai canalelor de potasiu (nicorandil), blocante á-adenergice, statine, IECA, medicaţie metabolică, inhibitori de glicoproteină IIbIIIa, precum şi aminofilină.

Se studiază efectele unor substanţe ca adenozina, pexilizumab, anticorpii monoclonali anti-receptor CD18 a subunităţii β2 a integrinei, dar şi tehnici de răcire endovasculară, terapie hiperoxemică sau cu dispozitive de protecţie (12).

Un element important în apariţia şi întreţinerea DMC, este leziunea de reperfuzie de la nivelul microcirculaţiei care poate constitui o ţintă terapeutică în prevenirea apariţiei DMC. În prezent se desfăşoară studii care propun noi strategii terapeutice, cum sunt: inhibitorii factorilor de creştere endoteliali, utilizarea de kinaze de salvare a injuriei (RISK) ce protejează miocardul de apoptoza celulară în timpul reperfuziei, ţintirea unor receptori ai factorilor de creştere (angiogeneza), precum şi ţintele rezultate din studii de bioinginerie.

CONCLUZII

Microcirculaţia coronariană este un teritoriu important datorită anatomiei şi rolului său în fiziologia şi fiziopatologia circulaţiei coronariene. Complexitatea anatomofuncţională face acest teritoriu dificil de definit, existând mai multe opinii privind delimitarea lui.

Deşi, în prezent, nu există nici o metodă care să permită vizualizarea directă (*in vivo*) a microcirculaţiei coronariene la oameni, totuşi, ea poate fi cuantificată prin metode directe şi indirecte ce presupun selectarea adecvată, cunoasterea şi disponibilitatea unor mijloace tehnice.

Conform conceptului fiziopatologic netradiţional, infarctul miocardic poate fi iniţiat simultan la nivelul microcirculaţiei şi prin formarea de tromb la nivelul vasului epicardic. Acest aspect nu modifică practica clinică, însă poate influenţa alegerea terapiilor adjuvante procedurilor de revascularizare.

Pentru instituirea unei strategii terapeutice adecvate, este important să ne „gândim" la DMC în context clinic şi să ţinem cont că, deşi nu există o terapie specifică a DMC, se poate utiliza o parte din medicaţia tradiţională, dar şi unele terapii particulare.

BIBLIOGRAFIE

1. Matsumoto T, Kajiya F. Coronary microcirculation: physiology and mechanics. *Fluid Dynamics Research* 2005; 37: 60-81.
2. Mittal N, Zhou Y, Linares C, Ung S, Kaimovitz B, Molloi S, Kassab GS. Analysis of blood flow in the entire coronary arterial tree. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289: 439-46.
3. Lee JS. 1998 Distinguished lecture: Biomechanics of the microcirculation, an integrative and therapeutic perspective. *Ann Biomed Eng* 2000; 28: 1-13.
4. Carmici PG, Crea F. Coronary Microvascular Dysfunction. *N Eng Lj Med* 2007; 356: 830-40.
5. Komaru T, Kanatsuka H, Shirato K. Coronary microcirculation physiology and pharmacology. *Pharmacol Ther* 2000; 86: 217-61.
6. Spaan JA, Piek JJ, Hoffman JI, Siebes M. Physiological basis of clinically used coronary hemodynamic indices. *Circulation* 2006; 113: 446-55.
7. P Dijkmans PA, Knaapen P, Sieswerda GT, Aiazian E, Visser CA, Lammertsma AA, Visser FC, Kamp O. Quantification of myocardial perfusion using intravenous myocardial contrast echocardiography in healthy volunteers: comparison with positron emission tomography. *J Am Soc Echocardiogr* 2006; 19: 285-93.
8. Wacker CM, Bauer WR. Myocardial microcirculation in humans - new approaches using MRI. *Herz* 2003; 28: 74-81.
9. Daghini E, Lerman LO. Assessment of myocardial microvascular function: new opportunities in fast computed tomography. *Trends Cardiovasc Med* 2007; 17: 14-9.
10. Aggeli C, Bonou M, Stefanadis C. Potential clinical applications of myocardial contrast echocardiography in evaluating myocardial perfusion in coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2005; 104: 1-9.
11. Prasad A, Gersh BJ. Management of microvascular dysfunction and reperfusion injury. *Heart* 2005; 91: 1530-2.
12. Lanza GA. Cardiac sydrome X: a critical overview and future perspectives. *Heart* 2007; 9: 159-66.
13. Bottcher M, Botker HE, Sonne H, Nielsen TT, Czernin J. Endothelium-dependent and - independent perfusion reserve and the effect of L-arginine on myocardial perfusion in patients with syndrome X. *Circulation* 1999; 99: 1795-1801.
14. Olivotto I, Cecchi F, Gistri R et al., Relevance of coronary microvascular flow impairment to long-term remodeling and systolic dysfunction in hpertrophic cardiomyopathy. *JACC* 2006; 47: 1043-8.
15. Petersen SE, Jerosch-Herold M, Hudsmith LE et al., Evidence for microvascular dysfunction in hypertrophic cardiomyopathy: new insights from multiparametric magnetic resonance imaging. *Circulation* 2007; 115: 2418-25.
16. Neglia D, Parodi O, Gallopin M et al. Myocardial blood flow response to pacing tachycardia and to dipyridamole infusion in patients with dilated cardiomyopathy without overt heart failure. *Circulation* 1995; 92: 796-804.
17. Choudhury L, Rosen SD, Patel D, Nihoyannopoulos P, Camici PG. Coronary vasodilator reserve in primary and secondary left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* 1997; 18: 108-16.
18. Ohba M, Hosokawa R, Kambara N et al. Difference in myocardial flow reserve between patients with dilated cardiomyopathy and those with dilated phase of hypertrophic cardiomyopathy. Circ J 2007; 71: 884-90.
19. Marzilli M, Sambuceti G, Fedele S, L'Abbate A. Coronary microcirculatory vasoconstriction during ischemia in patients with unstable angina. JACC, 2000, 35, 327-34.
20. PIEK JJ. Beyond epicardial reperfusion. *N Engl J Med* 2007; 356: 1880-2.
21. Heusch G, Schulz R, Haude M, Erbel R. Coronary microembolization. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 37: 23-31.
22. Lerman A, Holmes DR, Herrmann J, Gersh BJ. Microcirculatory dysfunctionin ST-elevation myocardial infarction: cause, consequence, or both? *Eur Heart J* 2007; 28: 788-97.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2008 – vol. 112, nr. 3

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ACTUALITĂŢI**

ADIPOKINES INVOLVEMENT IN LUNG FUNCTION

B. Gurzu[1], F.E. Zugun[2], M. Costuleanu[3], Tr. Mihăescu[4], E. Carasevici[2], Gh. Petrescu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Medicine
1. Department of Physiology
2. Department of Immunology
4. Department of Pneumology
School of Dentistry
3. Department of Physiopathology

ADIPOKINES INVOLVEMENT IN LUNG FUNCTION (Abstract): The last two decades brings many data about white adipose tissue capacity to secrete hormones, named adipokines, which could mediate the relationship between obesity and lung diseases. In this paper we presented some data about adipokines involvement on pulmonary function, with special emphasis on leptin, adiponectin, tumor necrosis factor alpha, vascular endothelial growth factor, resistin, hepatocyte growth factor, interleukin-6, angiotensinogen and apelin. **Key words**: ADIPOKINES, LEPTIN, ADIPONECTIN, ANGIOTENSINOGEN, APELIN

There are many data sustain a correlation between obesity and lung diseases. It is known that obesity is associated with an impaired immune response, an increased susceptibility to bacterial infection, a chronic increase in proinflammatory cytokines and increased responses to asthma triggers. This relationship might be the result of pathogenic mechanisms, associated diseases, obesity effects on lung mechanics (diminished lung compliance, abnormal respiratory muscle adaptations) or adipokines secretion. Up till now adipokines have included adiponectin, resistin, visfatin, leptin (involved in glycemic homeostasis), angiotensinogen (the precursor molecule of angiotensins), apelin (a recent identified endogenous ligand of APJ receptors), tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6), proteins of the alternative complement pathway (adipsin), transforming growth factor-β (TGF-β), vascular endothelial growth factor (VEGF), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) (regulator of blood coagulation) (1,2,3).

The adipocyte-derived hormone leptin (Ob protein) is a hormone produced by adipocytes, a powerful regulator of satiety centers in the brain and is now appreciated for its ability to control innate and adaptive immune responses. In humans, resistance to leptin has been consistently associated with obesity. Leptin (OB-R) receptors are located at the pulmonary parenchyma and at the bronchiolar epithelial level and the Ob-R level increased gradually from birth to adulthood where the expression is maximal (4). Physiologically leptin may act as a glucocorticoid-regulated diffusible mediator involved in lung maturation (5,6,7) and is a powerful stimulant of ventilation (8,9). Raised leptin levels have been reported in subjects with sleep apnea or obesity-hypoventilation syndrome (10). Individuals with normal body weight but with impaired lung function have also higher serum leptin levels (11).

Leptin can induce and resistance to leptin attenuates hyperoxia-induced lung injury and hyperoxia-induced inflammatory cytokines in the lung (12,13). Obese mice lacking leptin have innate airway hyperresponsiveness and increased pulmonary responses to asthma triggers (14). It has been shown that leptin modulates functions of T lymphocytes, B lymphocytes, NK cell and monocytes/macrophage (15). The leptin-deficient mouse exhibited increased susceptibility to the Klebsiella pneumoniae and enhanced lethality and reduced pulmonary bacterial clearance following *Streptococcus pneumoniae* challenge (8,16). Sepsis significantly decreased leptin levels and exogenous leptin has a protective role on vital organ functions after sepsis by recovering tissue myeloperoxidase activity (17).

Obesity is known as a risk factor for several human cancers and leptin has been found to play important roles in the development and progression of lung cancer. In advanced non-small cell lung cancer (NSCL) patients serum leptin inversely related to the intensity of the inflammatory response (18). Carpagnano GE et al. (2007) found an increase of leptin concentrations in the exhaled breath condensate of patients from stage I to stage III of NSLC and proposed it as a noninvasive marker for an early detection of this tumor (19). Ribeiro R et al. (2006) suggested the existence of genetic susceptibility for lung cancer in carriers of a functional polymorphism in the 5' flanking region of the leptin gene (LEP -2548 G/A) (20).

Adiponectin is an adipose tissue-derived specific protein that has antiinflammatory as well as anti-atherosclerotic effects. Hansmann G et al. (2007) have shown that a low plasma adiponectin level may be a risk factor for pulmonary arterial hypertension (21). Exogenous leptin may be protective in acute pancreatitis associated acute lung injury (22). Plasma adiponectin levels are lower in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and cystic fibrosis (CF) (23,24). Ovalbumine (OVA) challenge of sensitized mice decreased pulmonary mRNA expression of adiponectin-binding proteins, the serum adiponectin levels and the adipose tissue adiponectin mRNA expression (25).

Angiogenesis is essential during tissue repair and foetal development. In contrast, uncontrolled angiogenesis promotes tumor. One of the most specific and critical regulators of angiogenesis is **vascular endothelial growth factor** (VEGF), which regulates endothelial proliferation, permeability, and survival. Substantial evidence also implicates VEGF as an angiogenic mediator in tumors and numerous clinical trials are presently testing the hypothesis that inhibition of VEGF may have therapeutic value (26). It is known that the increased expression of VEGF correlates with less favorable clinical outcome for lung cancer patients (27,28). Preclinical studies suggested that ZD6474 (a potent orally available blocker of VEGF receptors) significantly enhanced the anti-angiogenic, anti-vascular, and anti-tumor effects of radiotherapy for human lung cancer growing orthotopically in mice (29). Clinically studies showed that bevacizumab (a humanized antibody against VEGF) improved survival for patients with lung cancer when was used in combination with chemotherapy (30). Although over-expression of VEGF in the lung induces pulmonary edema with increased lung vascular permeability, VEGF suppresses the apoptosis induced by inflammatory stimuli and acts as a protective factor against acute lung injury (31). It is known that airway epithelium is a source for VEGF and increase in bronchial wall vascular density is part of airway remodeling that occurs in chronic asthma (32). Avdalovic MV et al. (2006) shoed that increased vascular density in an animal model of chronic allergic asthma is airway generated and associated with a unique increase of VEGF splice variant gene expression (33).

The **interleukin-6** (IL-6) is a potent pleiotropic cytokine that mediates a plethora of pathophysiological roles in inflammatory diseases. Accumulating evidence strongly sustain involvement of IL-6 in lung remodeling and fibrosis (34,35,36).

Literature data suggest that **plasminogen activator inhibitor-1** (PAI-1) may play an important role in the pathogenesis of pulmonary diseases. The exogenous administration of PAI-1 or a deficiency of urokinase-type plasminogen activator (uT-PA) delays alveolar epithelial wound repair (37). PAI-1-deficient mice are protected from bleomycin-induced fibrosis possibly by increasing fibrinolytic activity of uT-PA (38,39). Cho SH et al. (2004) demonstrated that the mast cell (MCs) are a major source of PAI-1 and a large number of MCs expressing PAI-1 are infiltrated in the airways of patient with fatal asthma. Furthermore, PAI-1-deficient mice show reduced extracellular matrix deposition in the airways of a murine model of chronic asthma (40). Airway epithelial cells experience substantial compressive mechanical stress as a result of bronchoconstriction. A recent studies demonstrated increased gene expression of both TGF-β and PAI-1 that localizes to the epithelium in a chronic ovalbumin model of asthma (41,42,43).

Tumor necrosis factor alpha (TNFα) is a widely studied pleiotropic cytokine of the TNF superfamily. TNFα is implicated in asthma, chronic bronchitis (CB), COPD, acute lung injury and acute respiratory distress syndrome (ARDS) (44). Data describing the enhanced presence of TGF-ß and increased TGF-ß receptor density on fibroblasts in the lungs of individuals with fibrosing disease, together with the profound ability of TGF-ß to stimulate ECM production and to induce pulmonary fibrosis in model systems, have led many to believe that TGF-ß is a primary causative agent in the pathogenesis of pulmonary fibrosis (45).

Hepatocyte growth factor (HGF) is a multipotent regenerative factor that contributes to the repair process after lung injury (46,47). In the same time, HGF promoted growth and cell-matrix adhesion of lung cancer cells (48,49,50). In lung fibroblasts from systemic sclerosis patients, HGF down-regulates the accumulation of collagen and connective tissue growth factor (51).

Resistin, also known as Fizz3, is a member of the newly discovered cysteine-reach protein family, referred to as "resistin-like molecules" (RELM) or "found in inflammatory zone" (FIZZ). Resistin was found in inflammatory lung exudates (52) and is expressed in stromovascular fraction of white adipose tissue and in peripheral blood monocytes (53,54). Resistin also significantly upregulated the mRNA expression of VEGF receptors and matrix metalloproteinases (55). This data suggested the possible involvement of resistin in chronic pulmonary diseases associated with obesity (56).

Angiotensinogen (the only known precursor of the angiotensin peptides) and all other components of renin angiotensin system (RAS) were found on lungs confirmed existence of an intrapulmonary (local) RAS (57). Activation of systemic or local (pulmonary) RAS could influence lung activity by increasing of vascular permeability, vascular tone and fibroblast activity or by reducing alveolar epithelial cell survival, but could modify the tone of airways smooth muscle acting directly or by modification of other peptides effects (58,59,60). It is know that exogenous administered Ang II produces bronchoconstriction directly or amplifying other agents bronchoconstrictor effects (61). Further more, we demonstrated involvement in bronchial tone regulation of Ang II synthesized into airways walls (62). RAS is activated in acute severe asthma and Ang II and AT1 receptors are involved in bronchial hyper-responsiveness in asthmatic patients (63). On the other hand, we proved an increased Ang II synthesis on pulmonary arteries and bronchus of ovalbumine sensitized and challenged rats (64, 65,66).

Apelin is the endogenous ligand of recently de-orphanised APJ receptors. In rat tissues, the APJ receptor and apelin mRNAs were found in the lung, heart, skeletal muscle, kidney, brain and liver (67). Even more, in situ hybridisation histochemistry studies revealed intense APJ receptor gene expression in the parenchyma of the lung (68). In rats, the highest expression of APJ mRNA was detected in the lung, suggesting that APJ and its ligand play an important role in the pulmonary system (69). Until now there are no references about functional importance of AP - APJ pulmonary system. Considering our data about NO-dependent inhibitory effects of AP13 on Ang II-induced venoconstriction (70) we showed for the first time that both AP13 and U-II could stimulate NO synthesis in both bronchi and pulmonary artery (71,72). We continued the experiments and find that the activation of pulmonary AP-APJ system leading to increase bronchial constitutive NOS activity provides a very interesting target for developing suitable therapeutic approaches (73).

CONCLUSION

Taking into account the vast arsenal of hormones that adipose tissue has at its disposal we suggest that a better understanding of endocrine/ paracrine actions of adipokines could increase the possibility of there use in prevention or treatment of pulmonary disease.

REFERENCES

1. Smith AG, Sheridan PA, Harp JB, Beck MA. Diet-induced obese mice have increased mortality and altered immune responses when infected with influenza virus. *J Nutr* 2007 ; 137 (5) : 1236-1243.
2. Shore SA. Obesity and asthma : cause for concern. *Curr Opin Pharmacol* 2006 ; 6 (3) : 230-236.
3. Shore SA. Obesity and asthma : implications for treatment. *Curr Opin Pulm Med* 2007 ; 13 (1) : 56-62.
4. Dal Farra C, Zsürger N, Vincent JP, Cupo A. Binding of a pure 125I-monoiodoleptin analog to mouse tissues : a developmental study. *Peptides* 2000 ; 21 (4) : 577-587.
5. Tsuchiya T, Shimizu H, Horie T, Mori M. Expression of leptin receptor in lung : leptin as a growth factor. *Eur J Pharmacol* 1999 ; 365 (2-3) : 273-279.
6. Bergen HT, Cherlet TC, Manuel P, Scott JE. Identification of leptin receptors in lung and isolated fetal type II cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002 ; 27 (1) : 71-77.
7. Boucherat O, Benachi A, Chailley-Heu B, Franco-Montoya ML, Elie C, Martinovic J, Bourbon JR. Surfactant maturation is not delayed in human fetuses with diaphragmatic hernia. *PLoS Med* 2007 ; 4 (7) : e237.
8. Hsu A, Aronoff DM, Phipps J, Goel D, Mancuso P. Leptin improves pulmonary bacterial clearance and survival in ob/ob mice during pneumococcal pneumonia. *Clin Exp Immunol* 2007 ; 150 (2) : 332-339.
9. Campo A, Frühbeck G, Zulueta JJ et al. Hyperleptinaemia, respiratory drive and hypercapnic response in obese patients. *Eur Respir J* 2007 ; 30 (2) : 223-231.
10. O'Donnell CP, Tankersley CG, Polotsky VP, Schwartz AR, Smith PL. Leptin, obesity, and respiratory function. *Respir Physiol* 2000 ; 119 (2-3) : 163-170.
11. Sin DD, Man SF. Impaired lung function and serum leptin in men and women with normal body weight : a population based study. *Thorax* 2003 ; 58 (8) : 695-698.
12. Kirwin SM, Bhandari V, Dimatteo D et al. Leptin enhances lung maturity in the fetal rat. *Pediatr Res* 2006 ; 60 (2) : 200-204.
13. Bellmeyer A, Martino JM, Chandel NS, Scott Budinger GR, Dean DA, Mutlu GM. Leptin resistance protects mice from hyperoxia-induced acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2007 ; 175 (6) : 587-594.
14. Lu FL, Johnston RA, Flynt L, Theman TA, Terry RD, Schwartzman IN, Lee A, Shore SA. Increased pulmonary responses to acute ozone exposure in obese db/db mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006 ; 290 (5) : L856-865.
15. Tian Z, Sun R, Wei H, Gao B. Impaired natural killer (NK) cell activity in leptin receptor deficient mice : leptin as a critical regulator in NK cell development and activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002 ; 298 (3) : 297-302.
16. Mancuso P, Gottschalk A, Phare SM, Peters-Golden M, Lukacs NW, Huffnagle GB. Leptin-deficient mice exhibit impaired host defense in Gram-negative pneumonia. *J Immunol* 2002 ; 168 (8) : 4018-4024.
17. Lin J, Yan GT, Xue H, Hao XH, Zhang K, Wang LH. Leptin protects vital organ functions after sepsis through recovering tissue myeloperoxidase activity : an anti-inflammatory role resonating with indomethacin. *Peptides* 2007 ; 28 (8) : 1553-1560.
18. Alemán MR, Santolaria F, Batista N et al. Leptin role in advanced lung cancer. A mediator of the acute phase response or a marker of the status of nutrition? *Cytokine* 2002 ; 19 (1) : 21-26.
19. Carpagnano GE, Spanevello A, Curci C et al. IL-2, TNF-alpha, and leptin : local versus systemic concentrations in NSCLC patients. *Oncol Res* 2007 ; 16 (8) : 375-381.
20. Ribeiro R, Araújo AP, Coelho A et al. A functional polymorphism in the promoter region of leptin gene increases susceptibility for non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 2006 ; 42 (8) : 1188-1193.
21. Hansmann G, Wagner RA, Schellong S et al. Pulmonary arterial hypertension is linked to insulin resistance and reversed by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Circulation* 2007 ; 115 (10) : 1275-1284.
22. Gultekin FA, Kerem M, Tatlicioglu E, Aricioglu A, Unsal C, Bukan N. Leptin treatment ameliorates acute lung injury in rats with cerulein-induced acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007 ; 13 (21) : 2932-2938.
23. Moriconi N, Kraenzlin M, Müller B et al. Body composition and adiponectin serum concentrations in adult patients with cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 ; 91 (4) : 1586-1590.
24. Tomoda K, Yoshikawa M, Itoh T et al. Elevated circulating plasma adiponectin in underweight patients with COPD. *Chest* 2005 ; 132 (1) : 135-140.
25. Shore SA, Terry RD, Flynt L, Xu A, Hug C. Adiponectin attenuates allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2006 ; 118 (2) : 389-395.
26. Pandya NM, Dhalla NS, Santani DD. Angiogenesis—a new target for future therapy. *Vascul Pharmacol* 2006 ; 44 (5) : 265-274.
27. Mineo TC, Ambrogi V, Baldi A et al. Prognostic impact of VEGF, CD31, CD34, and CD105 expression and tumour vessel invasion after radical surgery for IB-IIA non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2004 ; 57 : 591-597.
28. Bremnes RM, Camps C, Sirera R. Angiogenesis in non-small cell lung cancer : the prognostic impact of neoangiogenesis and the cytokines VEGF and bFGF in tumours and blood. *Lung Cancer* 2006 ; 51 : 143-158.
29. Shibuya K, Komaki R, Shintani T et al. Targeted therapy against VEGFR and EGFR with ZD6474 enhances the therapeutic efficacy of irradiation in an orthotopic model of human non-small-cell lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007 ; 69 (5) : 1534-1543.
30. Sandler AB, Johnson DH, Herbst RS. Anti-vascular endothelial growth factor monoclonals in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004 ; 10 : 4258s-4262s.
31. Koh H, Tasaka S, Hasegawa N et al. Protective role of vascular endothelial growth factor in endotoxin-induced acute lung injury in mice. *Respir Res* 2007 ; 8 : 60-63.
32. Hoshino M, Nakamura Y, Hamid QA. Gene expression of vascular endothelial growth factor and its receptors and angiogenesis in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001 ; 107 : 1034-1038.
33. Avdalovic MV, Putney LF, Schelegle ES et al. Vascular remodeling is airway generation-specific in a primate model of chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006 ; 174 (10) : 1069-1076.

34. Smith RE, Strieter RM, Phan SH, Lukacs N, Kunkel SL. TNF and IL-6 mediate MIP-1 alpha expression in bleomycin-induced lung injury. *J Leukoc Biol* 1998 ; 64 : 528-536.
35. Kuhn C III, Homer RJ, Zhu Z et al. Airway hyperresponsiveness and airway obstruction in transgenic mice : morphological correlates in mice overexpressing interleukin (IL)-11 and IL-6 in the lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000 ; 22 : 289-295.
36. Qiu Z, Fujimura M, Kurashima K, Nakao S, Mukaida N. Enhanced airway inflammation and decreased subepithelial fibrosis in interleukin 6-deficient mice following chronic exposure to aerosolized antigen. *Clin Exp Allergy* 2004 ; 34 : 1321-1328.
37. Lazar MH, Christensen PJ, Du M et al. Plasminogen activator inhibitor-1 impairs alveolar epithelial repair by binding to vitronectin. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004 ; 31 (6) : 672-678.
38. Eitzman DT, McCoy RD, Zheng Xet al. Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in transgenic mice that either lack or overexpress the murine plasminogen activator inhibitor-1 gene. *J Clin Invest* 1996 ; 97 : 232-237.
39. Nishiuma T, Sisson TH, Subbotina N, Simon RH. Localization of plasminogen activator activity within normal and injured lungs by in situ zymography. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004 ; 31 (5) : 552-558.
40. Cho SH, Ryu CH, Oh CK. Plasminogen activator inhibitor-1 in the pathogenesis of asthma. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004 ; 229 (2) : 138-146.
41. Kelly MM, Leigh R, Bonniaud P et al. Epithelial expression of profibrotic mediators in a model of allergen-induced airway remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005 ; 32 : 99-107.
42. Swartz MA, Tschumperlin DJ, Kamm RD, Drazen JM. Mechanical stress is communicated between different cell types to elicit matrix remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 6180-6185.
43. Tschumperlin DJ, Shively JD, Kikuchi T, Drazen JM. Mechanical stress triggers selective release of fibrotic mediators from bronchial epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003 ; 28 : 142-149.
44. Mukhopadhyay S, Hoidal JR, Mukherjee TK. Role of TNFalpha in pulmonary pathophysiology. *Respir Res* 2006 ; 7 : 125-128.
45. Krein PM, Winston BW. Roles for insulin-like growth factor I and transforming growth factor-beta in fibrotic lung disease. *Chest* 2002 ; 122 (6 Suppl) : 289S-293S.
46. Shigemura N, Okumura M, Mizuno S, Imanishi Y, Nakamura T, Sawa Y. Autologous transplantation of adipose tissue-derived stromal cells ameliorates pulmonary emphysema. *Am J Transplant* 2006 ; 6 (11) : 2592-2600.
47. Makiuchi A, Yamaura K, Mizuno S et al. Hepatocyte growth factor prevents pulmonary ischemia-reperfusion injury in mice. *J Heart Lung Transplant* 2007 ; 26 (9) : 935-943.
48. Siegfried JM, Gubish CT, Rothstein ME, Queiroz de Oliveira PE, Stabile LP. Signaling pathways involved in cyclooxygenase-2 induction by hepatocyte growth factor in non small-cell lung cancer. *Mol Pharmacol* 2007 ; 72 (3) : 769-779.
49. Pierce A, Barron N, Linehan R et al. Identification of a novel, functional role for S100A13 in invasive lung cancer cell lines. *Eur J Cancer* 2008 ; 44 (1) : 151-159.
50. Nakamura Y, Matsubara D, Goto A et al. Constitutive activation of c-Met is correlated with c-Met overexpression and dependent on cell-matrix adhesion in lung adenocarcinoma cell lines. *Cancer Sci* 2008 ; 99 (1) : 14-22.
51. Bogatkevich GS, Ludwicka-Bradley A, Highland KB et al. Down-regulation of collagen and connective tissue growth factor expression with hepatocyte growth factor in lung fibroblasts from white scleroderma patients via two signaling pathways. *Arthritis Rheum* 2007 ; 56 (10) : 3468-3477.
52. Stütz AM, Pickart LA, Trifilieff A, Baumruker T, Prieschl-Strassmayr E, Woisetschläger M. The Th2 cell cytokines IL-4 and IL-13 regulate found in inflammatory zone 1/resistin-like molecule alpha gene expression by a STAT6 and CCAAT/enhancer-binding protein-dependent mechanism. *J Immunol* 2003 ; 170 (4) : 1789-1796.
53. Savage DB, Sewter CP, Klenk ES et al. Resistin / Fizz3 Expression in relation to obesity and peroxisome proliferator-activated receptor- gamma action in humans. *Diabetes* 2001 ; 50 : 2199-2202.
54. Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 2001 ; 285 : 561-564.

55. Mu H, Ohashi R, Yan S et al. A dipokine resistin promotes in vitro angiogenesis of human endothelial cells. *Cardiovasc Res* 2006 ; 70 (1) : 146-157.
56. Beltowski J. Adiponectin and resistin - new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit* 2003 ; 9 (2) : RA55-61.
57. Marshall RP. The pulmonary renin-angiotensin system. *Curr Pharm Des* 2003 ; 9 : 715-722.
58. Lebed'ko OA, Timoshin SS, Bespalova NN. Effects of angiotensin II on proliferative activity of epitheliocytes and smooth muscle cells of the tracheobronchial system in newborn albino rats. *Bull Exp Biol Med* 2000 ; 130 (7) : 636-638.
59. Du YC, Xu JY, Zhang SJ. Effects of angiotensin II receptor antagonist on expression of collagen III, collagen V, and transforming growth factor beta1 in the airway walls of sensitized rats. *Chin Med J (Engl)* 2004 ; 117 (6) : 908-912.
60. Gosens R, Schaafsma D, Grootte Bromhaar MM et al. Growth factor-induced contraction of human bronchial smooth muscle is Rho-kinase-dependent. *Eur J Pharmacol* 2004 ; 494 (1) : 73-76.
61. Brown AJ, Nally JE. Hydrocortisone abolishes the angiotensin II-mediated potentiation of endothelin-1 in bovine bronchi. *Clin Sci* 2001 ; 100 (1) : 19-23.
62. Dumitriu IL, Gurzu B., Slătineanu SM, Costuleanu M, Petrescu Gh. Interactions between angiotensin i and acethylcholine on raft left main bronchial rings. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2006 ; 110 (1) : 186-191.
63. Myou S, Fujimura M, Kamio Y, Kita T, Watanabe K, Ishiura Y, Hashimoto T, Nakao S. Effect of candesartan, a type 1 angiotensin II receptor antagonist, on bronchial hyper-responsiveness to methacholine in patients with bronchial asthma. *Br J Clin Pharmacol* 2002 ; 54 (6) : 622-626.
64. Dumitriu IL, Gurzu B, Petrescu B et al. Intrapulmonary renin angiotensin activation in antigen induced airway hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 2007 ; 30 (Suppl. 51) : 134S.
65. Gurzu B, Petrescu BC, Dumitriu IL, Mihai AC, Slătineanu SM. Local generation of angiotensin in isolated rat pulmonary vessels. *Proceedings of FEPS 2007*; Bologna : Monduzzi editore, 67-71.
66. Cernucan DL, Gurzu B, Slătineanu S et al. Contractile effects of angiotensinogen and its multiple metabolization pathways on vessel walls. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2007 ; 111 (3) : 717-722.
67. Katugampola SD, Maguire JJ, Matthewson SR, Davenport AP. ş(125)Iţ-(Pyr(1))Apelin-13 is a novel radioligand for localizing the APJ orphan receptor in human and rat tissues with evidence for a vasoconstrictor role in man. *Br J Pharmacol* 2001 ; 132 (6) : 1255-1260.
68. O'Carroll AM, Selby TL, Palkovits M, Lolait SJ. Distribution of mRNA encoding B78/apj, the rat homologue of the human APJ receptor, and its endogenous ligand apelin in brain and peripheral tissues. *Biochim Biophys Acta* 2000 ; 1492 (1) : 72-80.
69. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem* 2000 ; 275 (28) : 21061-21067.
70. Gurzu B., Petrescu BC, Costuleanu M, Petrescu Gh. Interactions between apelin and angiotensin II on rat portal vein. *J Renin Angiotensin Sys* 2006 ; 7 (4) : 212-216.
71. Dumitriu IL, Petrescu BC, Gurzu MB, Gurzu B, Slătineanu SM. New insight into nitric oxide involvement in regulation of airways smooth muscle tone. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2007 ; 111 (2) : 454-459.
72. Gurzu B, Dumitriu IL, Slătineanu SM, Petrescu G. The role of endothelium in apelin induced vascular relaxation. *Hypertension* 2007, 50 (4) : 812.
73. Gurzu B, Dumitriu IL, Petrescu B et al. Putative roles of apelin on airways hyperreactivity. *Eur Respir J* 2007 ; 30 (Suppl. 51) : 134s.

MODULATORY ROLE OF BIVALENT CATIONS ON REWARD SYSTEM

M. Nechifor, D. Chelărescu
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Dentistry
Department of Pharmacology

MODULATORY ROLE OF BIVALENT CATIONS ON REWARD SYSTEM (Abstract): Bivalent cations (Ca, Mg, Zn, Mn etc.) modulate activity of reward system (RS). At physiologic levels they may influence all components of RS. There are influenced behavioral reactions at physiological stimuli and all essential elements of drug dependence (compulsive intake of substance, craving , reinforcement , withdrawal syndrom, relapse and reinstatement of intake) The fact that some cations (e.g. calcium) enhance some of the aspects of drug dependence and others (e.g. magnesium, zinc) decrease intensity of this process show that ratio between intra- and extracellular in the brain of these cations is important for the function of RS. Among actions of different cations at the level of RS there are important differences. Their mecahanism of action are common in part and specific in other. It is important the fact that modulatory action appear at physiologic cation concentrations (that could be reached at therapeutic doses). Modulatory action is related to ratio between concetrations of different bivalent cations and is exerted both in normal or pathologic conditions. **Key words**: BIVALENT CATIONS, CALCIUM, MAGNESIUM, REWARD SYSTEM, MODULATION

Reward system (RS) is an important part of CNS with a major role in the function of human brain . It is composed by different and interconected anatomic structures involved in pleasure and desire for this (1). The reward system is involved in different types of behavioral reactions. Some of them are induced by natural stimuli (food, sexual activity) but also in drug dependence. Involvement of reward system in reactions at natural stimuli and essential components of drug dependence (compulsive intake, craving, reinforcement, withdrawal syndrome) are influenced by bivalent cations. Influences appear both at increase and decrease of cation concentrations and act at some histological and biochemical structures on reward system. We consider that existent data confirm a modulator effect of bivalent cations on RS.

The main structures of RS are ventral tegmentum, amigdala, nucleus accumbens, raphei nuclei, medial frontal fascicle. Meso-cortico-limbic circuits are key elements for reward.

The main neurotransmitters involved in reward are: dopamine, serotonin, glutamate, GABA and endogenous opiates (2). The balance between dopamine and serotonin systems is essential for the function of RS. Disturbances in the function of RS have different involvements; the most important is the emergence of dependences (at food, sex, drugs etc.).

Drug dependence becomes one of the major challenges for contemporary society. Drug dependence is characterized by compulsive intake of a substance, craving and withdrawal syndrome after abrupt discontinuation of substance. Misbalance between neuro-excitatory and neuro-inhibitory aminoacids is very important in the mechanism of craving (3). Differences in neuroadaptation at the level of glutamatergic and GABA-ergic systems in RS play the main role in clinical symptoms of withdrawal syndrome (4).

Some bivalent cations may modulate activity of reward system and influence all characteristics of drug dependence. RS modulation by bivalent cations appears both in normal and when the organism is under the influences addictive drugs. There are differences between actions and also mechanisms of action of these cations. Both extracellular and intracellular cations are involved in this process.

Calcium is the main bivalent cation with stimulatory action on RS. It increases dopamine and other brain cathecolamines release, activity of glutamatergic systems (involved in dependence and withdrawal syndrome) (5). Some calcium antagonists (as nifedipine or diltiazem) decrease cocaine and amphetamine-induced place preference (6). Administered alone, calcium channel blockers do not induced both either preference or aversion in place preference paradigm. An antagonist of calcium as PN-200110 decreases cocaine (10 mg/kg) reinforcing properties (7).

Han et al. (8) have shown that cocaine-induced behavioral responses involve calcium entering into neuron through calcium channels. Mutations in calcium channels structure or their block will decrease cocaine effect. Magnesium has a weak effect of stimulation of RS without inducing dependence, even in long administration. Magnesium may decrease cocaine self-administration in rats (9). For the other bivalent cations there are not known influences on RS at physiological concentrations in the absence of drug dependence. Zinc decreased morphine-induced place preference in non-dependent animals.

Calcium/calmodulin-depedent protein kinase II (CaM-kinase II) is involved in the acquisition of the amphetamine-produced conditioned-place preference (CPP), modulating amphetamine action on reward system (10). Inhibition of this enzyme at the amigdala and hypocampus level attenuates the dependence and the relapse to morphine in dependent rats (11). L-calcium channel blockers (e.g. dihydropyridines-nimodipine) decrease the ethanol intake and ethanol preference in different animals models of alcoholism (12). Co-administration of nifedipine (calcium channel blocker) and morphine prevented some symptoms during withdrawal syndrome (diarrhea, teeth chattering) in rats (13).

Nicotine (0.5 mg/kg i.p.) and morphine (10 mg/kg i.p.)-induced place preferences have been decreased by administration of calcium channel blockers (e.g. nimodipine 10-20 mg/kg i.p.). Reinstatement of drug-seeking behavior in animal and the drug relapse in human is calcium dependent (14).

Magnesium, the main intracellular bivalent cation exerts a double effect on RS. Some studies, have shown that Mg^{2+} (1-2 mM/kg) in animals has a stimulatory effect on RS and increases place preference. This fact is realized by individual stimulation of RS (15). On the other hand simultaneous administration of magnesium with substances that induce strong physical dependence (as morphine) determines a decrease in intensity of this drug dependence (16). Self-administration of cocaine is decreased in animals by magnesium (9). We consider that magnesium effect of decreasing intensity in opiate and psychostimulant dependence is based mainly by opposing to Ca^{2+} entering in neurons through calcium channels coupled with NMDA receptors (17).

On opposite with all other bivalent cations tested, administration of magnesium only during withdrawal syndrome (in human and animal too) decreases intensity of some withdrawal symptoms.

Zinc has an effect of decreasing intensity of some symptoms in opiate dependence if it is administered during emergence of opiate-induced physical dependence (18). Morphine and heroine produce a decrease in zinc concentration in brain. Urinary elimination of zinc is significantly increased in human subjects treated with methadone in morphine addicted persons in conditions of almost unchanged calcium rate (19).

Urinary excretion of zinc is more decreased in patients treated with methadone than in normal patients. Regarding how zinc may modulate some mechanisms of drug-dependence it is to be mentioned that human dopamine transporter (hDAT) contains a high affinity of Zn^{2+} binding site (20) and play a role in the reverse transport mediated by monoamine transporter at neuronal level. Repeated amphetamine administration in rats induces striatal alteration of Zif/268, a member of zinc finger family of immediate early genes (21). We consider that an essential mechanism for zinc effect on decreasing opiate-induced dependence (22) is Zn^{2+} inhibition of dopamine transporter (DAT). Zn^{2+} can alter effects of cocaine and other abused substances on dopamine transporter.

Manganese decreases intensity of morphine-induced physical dependences in rats (23). The main mechanism involved in manganese action in this case is :

a) Mn^{2+} is a blocker of calcium channels coupled with NMDA receptor

b) Mn^{2+} inhibits binding of agonist to NMDA receptors (24)

c) In higher concentrations (but reachable in human body) Mn^{2+} accelerates dopamine metabolism through oxidation.

Strong and sustained increase of dopamine level on RS is the main component of drug dependence. Mn^{2+} has an opposite action to Ca^{2+} (that increases dopamine degradation by free-radical chain reactions (25).

Copper influences in lower degree RS and there are no data to attest that intensity of drug dependence could be influenced by this cation. Copper administration during opiate-induced withdrawal syndrome could not modified symptoms.

Copper is not lack of any action on tegmentum ventral or nucleus accumbens, essential structures of RS. It is observed that oral or parenteral administration of copper in rats didn't affect significantly concentration of copper into the brain. It is necessary a long period for that changing to appear. Misbalances in copper homeostasis affects brain monoamine metabolism and behavioral functions (26).

CONCLUSIONS

The modulatory role of some bivalent cations on RS may contribute to the treatment of abnormal mood and behaviors, other than drug dependences. Administration of magnesium is recommended for treating anhedonia.

Possibility to modulate RS activity by bivalent cations raises new issues about how some foods may influence human behavior. On the other hand, diverse evolution of drug dependence in different human subjects might be a consequence not only to genes but to cations' concentrations in the brain.

REFERENCES

1. Koob GF. The neurobiology of addiction: a neuroadaptational view relevant for diagnosis. *Addiction* 2006 ; 101 Suppl 1 : 23-30.
2. Nevo I, Hamon M. Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism. *Neurochem Int* 1995 ; 26 (4) : 305-336.
3. DeWitte P. Imbalance between neuroexcitatory and neuroinhibitory amino acids causes craving for ethanol. *Addict Behav* 2004 ; 29 (7) : 1325-1339.
4. Littleton J. Neurochemical mechanisms underlying alcohol withdrawal. *Alcohol Health Res World* 1998 ; 22 (1) : 13-24.

5. Miyatake M, Narita M, Shibasaki M, Nakamura A, Suzuki T. Glutamatergic neurotransmission and protein kinase C play a role in neuron-glia communication during the development of methamphetamine-induced psychological dependence. *Eur J Neurosci* 2005 ; 22 (6) : 1476-1488.
6. Suzuki T, Shiozaki Y, Masukawa Y, Misawa M. Effects of calcium antagonists on the cocaine- and methamphetamine-induced conditioned place preference. *Arukoru Kenkyuto Yakubutsu Ison* 1992 ; 27 (1) : 81-90.
7. Pani L, Kuzmin A, Martellotta MC, Gessa GL, Fratta W. The calcium antagonist PN 200-110 inhibits the reinforcing properties of cocaine. *Brain Res Bull* 1991 ; 26 (3) : 445-447.
8. Han W, Saegusa H, Zong S, Tanabe T. Altered cocaine effects in mice lacking Ca(v)2.3 (alpha(1E) calcium channel. *Biochem Biophys Res Commun* 2002 ; 299 (2) : 299-304.
9. Kantak KM, Lawley SI, Wasserman SJ, Bourg JF. Magnesium-maintained self-administration responding in cocaine-trained rats. *Psychopharmacol* 1991 ; 104 (4) : 527-535.
10. Tan SE. Impairing the amphetamine conditioning in rats through the inhibition of hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II activity. *Neuropharmacol* 2002 ; 42 (4) : 540-547.
11. Lu L, Zeng S, Liu D, Ceng X. Inhibition of the amygdala and hippocampal calcium/calmodulin-dependent protein kinase II attenuates the dependence and relapse to morphine differently in rats. *Neurosci Lett* 2000 ; 291 (3) : 191-195.
12. DeVry J, Schreiber R, De Beun R. Discriminative and affective stimulus effects of dihydropyridine calcium channel modulators : relationship to antialcohol effects. *Pharmacol Biochem Behav* 1999 ; 64 (2) : 203-211.
13. Vitcheva V, Mitcheva M. Effects of nifedipine on behavioral and biochemical parameters in rats after multiple morphine administration. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2004 ; 26 (8) : 631-634.
14. Biala G, Budzynska B. Reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming : effects of calcium channel antagonists. *Eur J Pharmacol* 2006 ; 537 (1-3) : 85-93.
15. Lawley SI, Kantak KM. Magnesium-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1990 ;
16. Nechifor M, Chelărescu D, Miftode M. Magnesium influence on morphine-induced pharmacodependence in rats. *Magnes Res* 2004 ; 17 : 7-13.
17. Sinert R, Zehtabchi S, Desai S, Peacock P, Altura BT, Altura BM. Serum ionized magnesium and calcium levels in adult patients with seizures. *Scand J Clin Lab Invest* 2007 ; 67 (3) : 317-326.
18. Ciubotariu D, Chelărescu D, Cuciureanu M, Mândreci I, Nechifor M. Research about zinc influence on morphine induced pharmacodependence. *Proceedings of the 5th Symposium International on Trace Elements In Human New Perspectives*, 2005, 60-68.
19. Iyengar V, Chou PP, Costantino AG, Cook CB. Excessive urinary excretion of zinc in drug addicts : a preliminary study during methadone detoxification. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 1994 ; 8 (3-4) : 213-215.
20. Scholze P, Nřrregaard L, Singer EA, Freissmuth M, Gether U, Sitte HH. The role of zinc ions in reverse transport mediated by monoamine transporters. *J Biol Chem* 2002 ; 277 (24) : 21505-2113.
21. Wang JQ, McGinty JF. Differential effects of D1 and D2 dopamine receptor antagonists on acute amphetamine- or methamphetamine-induced up-regulation of zif/268 mRNA expression in rat forebrain. *J Neurochem* 1995 ; 65 (6) : 2706-2715.
22. Bjorklund NL, Volz TJ, Schenk JO. Differential effects of Zn^{2+} on the kinetics and cocaine inhibition of dopamine transport by the human and rat dopamine transporters. *Eur J Pharmacol* 2007 ; 565 (1-3) : 17-25.
23. Nechifor M, Chelărescu D, Palamaru I. Research about manganese influence on morphine-induced pharmacodependence in rat. *Trace Elements and Electrolytes* 2005 ; 22 (1) : 11-15.
24. Guilarte TR, Chen MK. Manganese inhibits NMDA receptor channel function : Implications to psychiatric and cognitive effects. *Neurotoxicol* 2007 ; 28 (6) : 1147-1152.
25. Lebedev AV, Ivanova MV, Timoshin AA, Ruuge EK. Effect of group II metal cations on catecholate oxidation. *Chemphyschem* 2007 ; 8 (12) : 1863-1869.
26. Fujiwara N, Iso H, Kitanaka N et al. Effects of copper metabolism on neurological functions in Wistar and Wilson's disease model rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2006 ; 349 (3) : 1079-1086.

VIZUALIZAREA PRIN SCINTIGRAFIE A PROTEINEI PGP - METODĂ NEINVAZIVĂ DE EVALUARE A CARACTERULUI MDR TUMORAL

Cipriana Ştefănescu[1], **V. Rusu**[1], **Daniela Boişteanu**[2], **M. Guţu**[1], **S. Makkai**[1], **L. Miron**[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Biofizică şi Fizică medicală - Medicină Nucleară,
2. Disciplina de Pneumoftiziologie
3. Disciplina de Oncologie-Radioterapie

SCINTIGRAPHIC VISUALIZATION OF PGP PROTEIN: A NON-INVASIVE METHOD TO EVALUATE THE MDR CELLULAR CHARACTER (Abstract): The MDR character is a major factor that influence the efficacity of cancer chemotherapy. This feature can be noninvasively evaluated through ^{99m}Tc isonitrils (MIBI, Tetrofosmin) scintigraphy, because these radiotracers cellular efflux is mediated by the Pgp membranar active transport system, the same that mediate chemotherapy drugs cellular efflux. The Pgp glycoprotein overexpression in the case of the MDR positive tumoral cells will determine both the chemotherapic drug and the isonitrile radiotracer quickly efflux from the cell. This paper present, based both on the literature and personal authors research work, the principle of the method, radiotracers structural characteristics and cellular uptake mechanism, practical protocol details from the acquisition untill the qualitative and quantitative image processing and results interpretation. Quantification indexes are proposed for the radiotracer cellular uptake quantitative evaluation on the scintigraphic image. The results could bring the possibility to make MDR positive patient diagnosis and further selection for the MDR modulators drug therapy.

Key words: PGP PROTEIN, MDR, CANCER, ^{99M}TC TETROFOSMIN

Caracterul de multidrog-rezistenţă (MDR) a celulei neoplazice condiţionează eficienţa chimioterapiei neoplaziilor. MDR este în directă relaţie cu expresia glicoproteinei Pgp membranare, proteină ce mediază efluxul unor medicamente chimioterapice. Astfel, în cazul celulelor MDR pozitive, apare supraexpresia acestei proteine şi, ca urmare, un eflux rapid şi crescut al medicamentelor chimioterapice, determinând, astfel, ineficienţa terapiei (1,2). S-a demonstrat că unele molecule radiomarcate (^{99m}Tc isonitrili) se pot acumula în celula tumorală (3,4,5,6) şi au o cinetică de eflux similară medicamentelor chimioterapice, mediat de proteina Pgp (7,8,9). Ca urmare, imagistica scintigrafică cu aceste radiofarmaceutice, scintigrafia cu ^{99m}Tc isonitrili (MIBI şi Tetrofosmin), ar putea permite punerea în evidenţă şi evaluarea cantitativă a acestui caracter, prin cuantificarea gradului de fixare a radiotrasorului la nivelul tumorii maligne, pe imagini precoce comparativ cu imagini tardive. Ar putea fi, astfel, selectaţi pacienţii care nu vor raspunde la chimioterapie, necesitând, eventual, utilizarea unor modulatori MDR, care să inhibe sistemul de transport membranar MDR şi, deci, să permită atât acumularea radiotrasorului (şi obţinerea unei imagini pozitive), cât şi acumularea chimioterapeuticului în celula tumorală.

Interpretarea corectă şi înţelegerea scintigramelor obţinute depind de cunoaşterea: a) structurii radiotrasorului, precum şi a mecanismului său de influx şi eflux la nivelul celulei neoplazice; b) structurii celulare a neoplaziei studiate. Vom face o scurtă prezentare a acestora în cele ce urmează, referindu-ne îndeosebi la ^{99m}Tc Tetrofosmin (Mw), radiofarmaceuticul care poate fi importat în prezent în România şi pe care l-am utilizat în studiul nostru, în cadrul Contractului 282/GAR/2007.

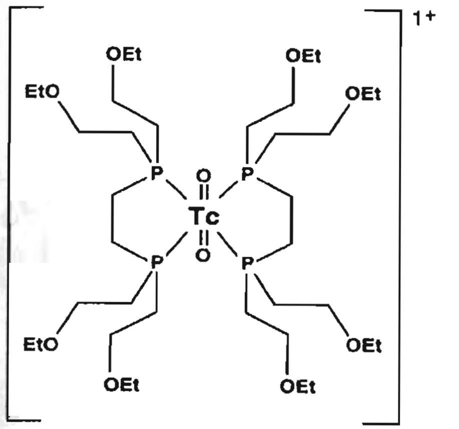


Fig. 1. Structura moleculei de ^{99m}Tc Tetrofosmin (9)

a) Structura şi mecanismul de captare celulară a ^{99m}Tc Tetrofosmin

^{99m}Tc Tetrofosmin (denumirea comercială *Mioview*, produs de firma *Amersham*) are formula chimică: 1,2-bisbis(2-etoxietil)fosfinoetan (fig. 1).

Compusul este o moleculă lipofilă, din familia ^{99m}Tc izonitrililor, care traversează membranele celulare în funcţie de gradientul electrochimic (prin ecuaţiile Nernst)(8) şi în relaţie cu fluiditatea membranei (10, 11). Aranjarea radicalilor alchil la exterior (12) permite traversarea liberă a mediului hidofob al bistratului lipidic membranar (fig. 2).

Intracitoplasmatic, acest radiofarmaceutic se acumulează îndeosebi în mitocondrii, ceea ce explică fixarea intensă a ^{99m}Tc Mw în celulele cu activitate mitocondrială ridicată (13). Fibroblastele fixează acest radiotrasor într-o proporţie foarte redusă, considerată ca fiind cea mai redusă între celulele normale, aşa cum demonstrează studiile pe culturi de celule. Celulele necrotice nu fixează radiotrasorul (11,14).

S-a demonstrat că fixarea ^{99m}Tc Mw la nivel celular este infuenţată de factori moleculari (gradul de lipofilie, poziţia sarcinii electrice globale, aranjarea atomilor în moleculă şi tipul de legături ce condiţionează forma moleculei) - (8,12,13) dar şi de factori celulari (potenţialul membranar plasmatic şi mitocondrial, raportul mitocondrial volum/suprafaţă, forma celulară, diferenţa de permeabilitate pentru unele specii ionice şi moleculare a membranei plasmatice) - (14,15).

Efluxul celular de ^{99m}Tc Mw este mediat de o proteină integrală a plasmalemei, glicoproteina MDR1-P (Pgp) cu Mr 170 kDa, codată de gena MDR. Depleţia ATP determină creşterea acumulării de radiotrasor de la 40% la 90%, ca urmare a dependenţei Pgp de concentraţia intracelulară de ATP (16,17). Pgp reprezintă un sistem de transport activ care mediază atât efluxul unor medicamente chimioterapice cât şi efluxul ^{99m}Tc izonitrililor. Proteina traversează membrana celulară de 12 ori, în segmentul intracitoplasmatic existând două situsuri de legare a substratului (H şi R, în fig. 3) şi două situsuri de legare pentru ATP (9).

b) Rolul celularităţii neoplaziei în explicarea fixării tisulare a radiofarmaceuticului

Cu privire la celularitatea neoplaziei, trebuie menţionată eterogenitatea celulară: tumora este constituită dintr-un ansamblu de celule neoplazice şi non-neoplazice (fig. 4). Dintre acestea nu toate fixează ^{99m}Tc Mw (8):

- celulele neoplazice viabile, proliferative şi neproliferative, fixează ^{99m}Tc Mw prin mecanisme specifice; celulele neoplazice necrozate nu fixează ^{99m}Tc Mw;
- la nivelul celulelor non-neoplazice, ^{99m}Tc Mw poate fi fixat, la un nivel foarte redus (în special la nivelul fibroblastelor).

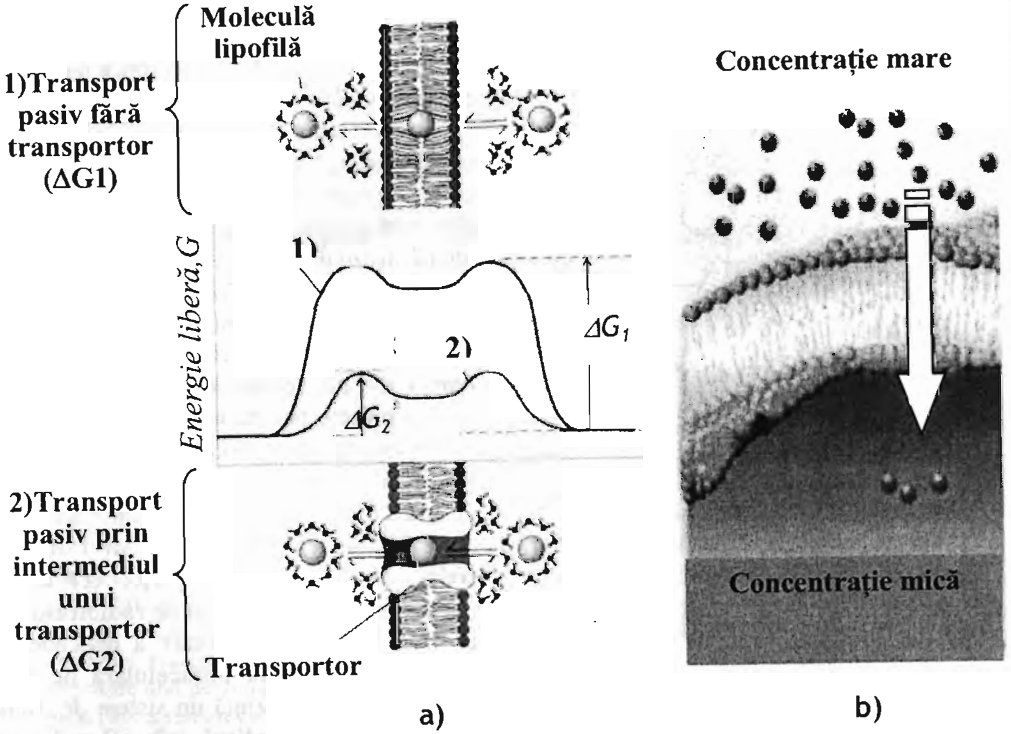

Moleculă lipofilă
1)Transport pasiv fără transportor (ΔG1)
Energie liberă, G
1)
2)
ΔG1
ΔG2
2)Transport pasiv prin intermediul unui transportor (ΔG2)
Transportor
Concentraţie mare
Concentraţie mică
a)
b)

Fig. 2. Transportul pasiv al ^{99m}Tc isonitrili se produce după modelul difuziunii simple a unei molecule lipofile, necesitând energie mai mare decât în cazul difuziunii facilitate de un transportor (a). Transportul se face în sensul gradientului electrochimic (b) – (9)

Deci, în ansamblul celulelor intratumorale, fixarea ^{99m}Tc Mw depinde în primul rând de caracteristicile celulelor maligne.

MATERIAL ŞI METODĂ

1. Lotul de studiu

Pacienţii care pot fi incluşi în lotul de studiu trebuie selecţionaţi după o serie de criterii de includere şi excludere atent stabilite, similare, pentru ca lotul să fie omogen. Colaborarea cu medicul de specialitate care a stabilit diagnosticul neoplaziei şi medicul oncolog care dirijează chimioterapia este definitorie pentru succesul studiului. În studiul nostru lotul a fost constituit din pacienţi internaţi pentru diagnostic şi tratament în Spitalul de Pneumoftiziologie Iaşi şi Clinica de Oncologie a Spitalului „Sf. Spiridon".

Criterii de includere:

- pacienţi nou diagnosticaţi, cu diagnostic pozitiv de neoplasm stadiile IIIa, IIIb şi IV;
- anterior instituirii chimioterapiei;
- cu leziuni radiologice evidente (Rx, CT);
- care să poată fi rechemaţi la 6 şi la 11 luni, pentru a putea continua studiul evolutiv, de obicei în două etape.

Criterii de excludere:

- graviditatea.
- pacienţi care nu pot sta imobili, în decubit dorsal minim 10 minute (ceea ce ar face imposibilă achiziţia de imagini scintigrafice).

2. Protocol de lucru

Toţi pacienţii trebuie informaţi despre explorarea efectuată pentru a-şi da acordul.

Interogatoriul urmăreşte o serie de caracteristici, care vor fi notate:

- statusul fumător sau nefumător;
- prezenţa unor afecţiuni pulmonare în antecedente şi alte boli asociate;
- antecedentele heredo-colaterale, cu eventuala prezenţă a neoplaziilor în familie.
- manifestări clinice subiective şi obiective, insistând asupra semnelor şi simptomelor în relaţie cu aparatul respirator (îndeosebi tuse) şi a celor generale (inapetenţă, scădere ponderală etc.);
- diagnosticul clinic şi de laborator;
- examene de laborator:
  - Hemoleucogramă, hematocrit (Ht), hemoglobină (Hb)
  - VSH
  - Uree
  - Creatinina
  - Glicemie
  - Fostataza alcalină
  - TGP/TGO
  - Radiografia toracică standard sau/şi CT
  - Examen fibrobronhoscopic cu periaj bronşic sau cu biopsie ± biopsie ganglionară
  - Scintigramă osoasă cu ^{99m}TcMDP
  - Alte analize (echografie abdominală etc.).

3. Doze administrate

Studiile realizate până în prezent demonstrează că doza optimă de ^{99m}Tc Mw care trebuie administrată pentru scintigrafia tumorală este de **7,4 MBq (0,2 mCi)/Kg/** pacient, ceea ce corespunde unei doze standard de **20 mCi pentru un adult de 70 kg**

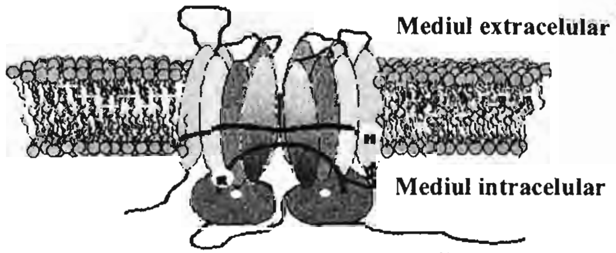

Mediul extracelular
Mediul intracelular

Fig. 3. Reprezentarea conformaţională a proteinei de eflux a ^{99m}Tc isonitrili (Pgp), în ansamblul bistratului lipidic membranar (9)

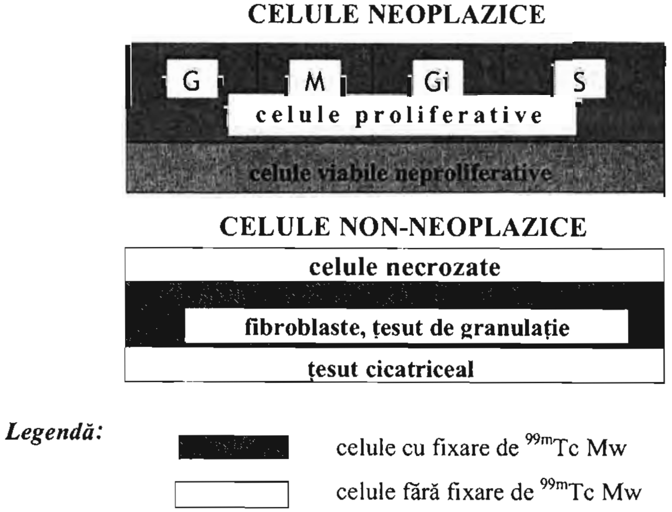

CELULE NEOPLAZICE
G
M
Gi
S
celule proliferative
celule viabile neproliferative
CELULE NON-NEOPLAZICE
celule necrozate
fibroblaste, ţesut de granulaţie
ţesut cicatriceal
Legendă:
celule cu fixare de 99mTc Mw
celule fără fixare de 99mTc Mw

Fig. 4. Fixarea ^{99m}Tc Mw la nivelul ţesutului tumoral neoplazic şi non-neoplazic (8)

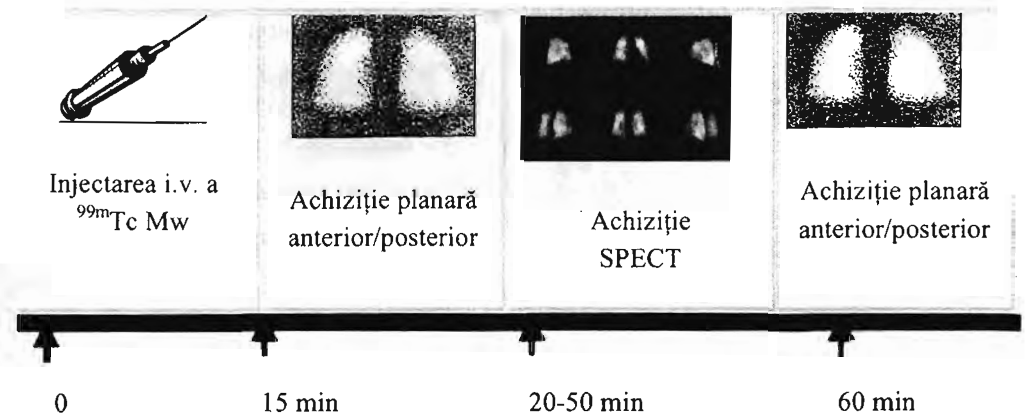

Injectarea i.v. a ^{99m}Tc Mw
Achiziţie planară anterior/posterior
Achiziţie SPECT
Achiziţie planară anterior/posterior
0
15 min
20-50 min
60 min

Fig. 5. Protocol de achiziţie de imagini în scintigrafia tumorală cu ^{99m}Tc Mw - exemplul scintigrafiei pentru neoplasmul pulmonar

(18,19,20,21,22). Administrarea se realizează prin injectare intravenoasă directă în vena brahială, la membrul de partea opusă leziunii, cu ajutorul unei seringi cu protecţie de plumb.

Pe tot parcursul investigării pacienţii trebuie supravegheaţi (simptomatologie, puls, tensiune arterială).

4. Aparatura utilizată

Pentru realizarea scintigrafiei pulmonare de perfuzie se utilizează Gamma camera SPECT cu unul/două capuri de detecţie şi colimatoare paralele de înaltă rezoluţie.

Prelucrarea datelor se efectuează cu un soft dedicat.

5. Protocol de achiziţie a imaginilor scintigrafice

Toţi pacienţii trebuie exploraţi cu acelaşi protocol scintigrafic, stabilit în conformitate cu datele din literatură (18,19,20, 21,22,23,24,25). Acest protocol include imagini precoce şi tardive, dar depinde şi de tipul de neoplasm studiat. În cele ce urmează ne vom referi la scintigrafia pulmonară de perfuzie pentru neoplasmul pulmonar.

Fiecărui pacient i se efectuează:

- două imagini statice planare din incidenţă anterioară (FA) şi posterioară (FP), prima la 10 minute după injectarea dozei de ^{99m}Tc Mw, iar cea de-a doua la 60 minute de la administrarea radiofarmaceuticului.
- achiziţii tomografice (SPECT).
- cinetica de fixare pentru verificarea timpului optim de start al achiziţiei de imagini (fig. 5).

Parametrii achiziţiei statice planare sunt:

- Matrice 256 x 256
- 3000000 impulsuri/ imagine
- ZOOM 1,5.

Pentru achiziţiile tomografice parametrii sunt:

- Matrice 128 x 128
- Imagini de 20 secunde, cu un pas de 10° pe o rotaţie completă (360°)
- ZOOM 1.

6. Metode de procesare a imaginilor

Imaginile scintigrafice pulmonare de perfuzie obţinute trebuie analizate din punct de vedere calitativ şi cantitativ, independent dar şi comparativ cu imaginile radiologice/ CT ale pacienţilor.

Analiza calitativă urmăreşte atât intensitatea fixării ^{99m}Tc Mw la nivelul celor doi plămâni cât şi concordanţa leziunilor patologice observate prin metoda scintigrafică, cu acelea observate prin radiografia toracică standard sau/şi CT, pentru evidenţierea unor situsuri noi, neobservate pe radiografie.

Fixarea este clasificată astfel:

- lipsa fixării

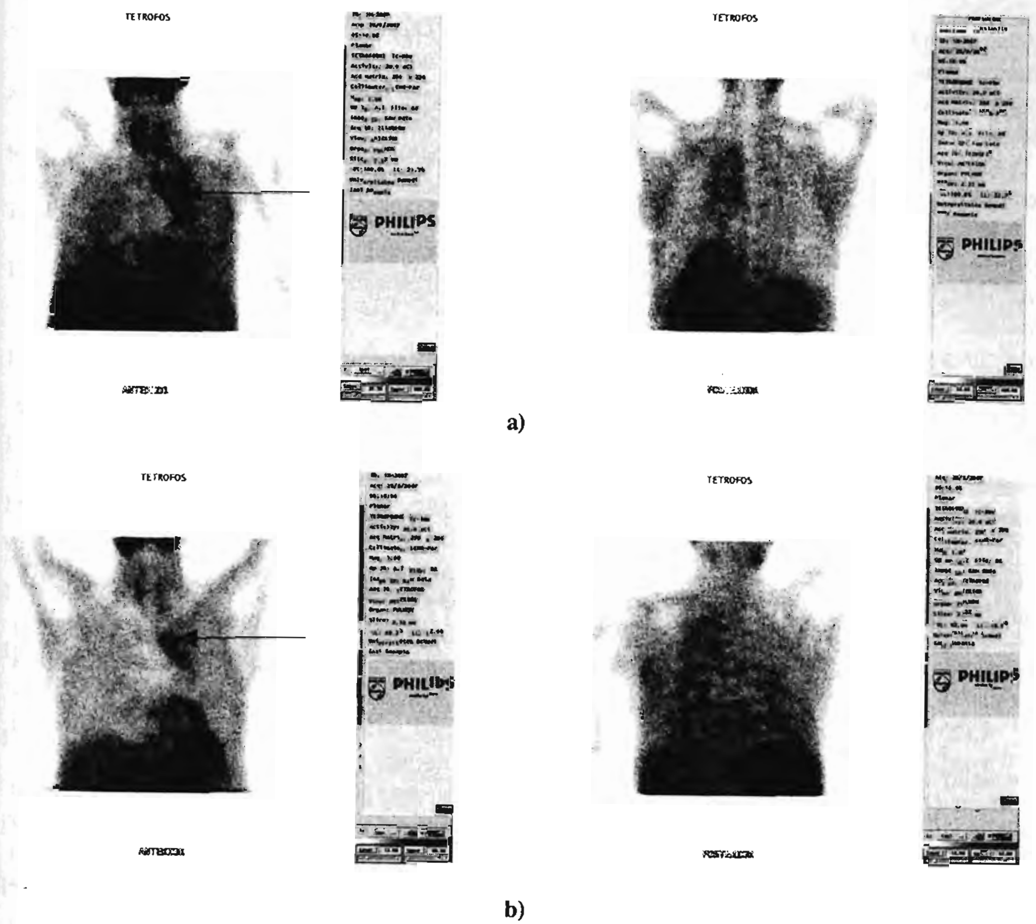


Fig. 6. Scintigrafia pulmonară de perfuzie cu ^{99m}Tc Mw la un pacient cu neoplasm bronhopulmonar stâng cT$_4$ N$_2$M$_0$ stadiul III B : **a)** Scintigrafie statică precoce incidenţă anterioară şi posterioară. **b)** Scintigrafie statică tardiv incidenţă anterioară şi posterioară. Se observă un situs de fixare eterogenă a radiofarmaceuticului (săgeata), mai evident din incidenţă anterioară, situat la nivelul LSS, corespunzător formaţiunii evidente pe imaginile CT. Situsul este vizibil atât iniţial **(a)** cât şi tardiv **(b)**. *(Din Arhiva Laboratorului de Medicină Nucleară, Sp. Sf. Spiridon Iaşi).*

+ fixare redusă
++ fixare moderată
+++ fixare intensă.

Pentru *analiza cantitativă* a fixării radiofarmaceuticului se desenează regiuni de interes (ROI) reprezentând:

- conturul maxim al situsului de fixare patologic (ROI$_1$) ; astfel, numărul de impulsuri pe această regiune reprezintă totalitatea activităţii fixate pe ansamblul leziunii neoplazice;
- o regiune de interes de zgomot de fond pulmonar (ROI$_2$) - aleasă într-o regiune pulmonară normală;
- o regiune de interes la nivelul cordului (ROI$_3$), fiind cunoscut că celulele miocardice normale sunt cele mai intens fixatoare celule normale de ^{99m}Tc Mw, ca şi de alţi izonitrili techneţiaţi.

Pentru o interpretare cât mai exactă a imaginilor scintigrafice obţinute, alegerea regiunilor de interes trebuie făcută corect.

Zona de interes aleasă în regiunea pulmonară normală (ROI_2) trebuie să aibă aceeaşi suprafaţă ca şi zona de interes de la nivelul leziunii neoplazice pulmonare (ROI_1).

Cuantificarea fixării se realizează prin calculul unor indici:

$I_{TETROFOSMIN}(1)$ sau $I_{Mw(1)}$ = raportul dintre numărul de impulsuri/pixel la nivelul imaginii patologice şi numărul de impulsuri/pixel la nivelul unei zone normale pulmonare de aceeaşi suprafaţă.

$I_{TETROFOSMIN}(2)$ sau $I_{Mw(2)}$ = raportul dintre numărul de impulsuri/pixel la nivelul imaginii patologice şi numărul de impulsuri/pixel pentru aceeaşi suprafaţă de la nivelul cordului.

$I_{TETROFOSMIN}(3)$ sau $I_{Mw(3)}$ = raportul dintre numărul de impulsuri/pixel la nivelul unei zone normale a plămânului şi numărul de impulsuri/pixel pentru aceeaşi suprafaţă la nivelul cordului.

COMENTARII

Utilizarea indicilor de fixare face posibilă cuantificarea precisă a gradului de fixare celulară a radiofarmaceuticului la cele două momente de examinare şi evaluarea certă a efluxului moleculei marcate, prin compararea indicilor, complementar aprecierii, vizuale, calitative.

Ca urmare a datelor prezentate anterior cu privire la mecanismul de fixare celulară a radiofarmaceuticului, studiind imaginile scintigrafice şi leziunile evidente pe radiografie dar afixatoare pe scintigrafie, se poate afirma că leziunile de neoplasm care prezintă în proporţie mare celule necrotice şi/sau fibroblaste precum şi leziunile pleurale sunt cele care nu fixează ^{99m}Tc Mw, deşi apar radiologic, având densitate tisulară modificată în ansamblul parenchimului pulmonar.

În urma evaluării imaginilor scintigrafice obţinute prin modul de achiziţie tomografică SPECT se constată o delimitare mai precisă şi o identificare mai exactă a sediului leziunilor pulmonare neoplazice.

CONCLUZII

Studiile care demonstrează că analiza *in vivo*, prin scintigrafie, a cineticii celulare a ^{99m}Tc isonitrililor reprezintă un mod eficient şi sensibil pentru detecţia expresiei funcţionale a proteinei Pgp, precum şi pentru caracterizarea sa cantitativă, pot constitui punctul de plecare pentru selecţia pacienţilor MDR pozitivi, care vor putea fi incluşi într-un plan de terapie cu modulatori MDR, în vederea sensibilizării acestora pentru chimioterapie.

BIBLIOGRAFIE

1. Herman LW, Rao V et al. Imaging and modulation of multidrug resistance P-glycoprotein (Pgp) transport function with novel hexakis (alkyl isonitrile) ^{99m}Tc complexes. *J Nucl Med* 1994 ; 35 : 19P.
2. Liu TJ, Tsai SC, Ho YJ, Sun SS, Kao CH. Comparison of the expression of P-glycoprotein, Ki-67, and P-53 to technetium-99m tetrofosmin mammoscintigraphic findings. *Cancer Invest* 2002 ; 20 (2) : 199-205.
3. Arbab AS, Koizumi K, Toyama K et al. Detection of lung and chest tumours using ^{99m}Tc-tetrofosmin : comparison with ^{201}Tl. *Nucl Med Commun* 1998 ; 19 : 657-663.
4. Atasever T, Gökcora N, Vural G et al. Evaluation of malignant and benign lung lesions with ^{99m}Tc-tetrofosmin. *Nucl Med Commun* 1996 ; 17 : 577-582.
5. Basoglu T, Bernay I, Coskun C et al. Pulmonary ^{99m}Tc tetrofosmin imaging : clinical experience with detecting malignant lesions and monitoring response to therapy. *Clin Nucl Med* 1998 ; 23 : 753-757.
6. Ştefănescu C, Moins N, Clayet F, Mouchoniere M, Younes A, Meignan M, Maublant J, Veyre A, Etude *in vitro* de la fixation du ^{99m}Tc Tetrofosmin sur des lignées de cellules tumorales et des cellules cardiaques en culture. *Méd Nucl - Imagerie fonctionnelle et métabolique* 1995 ; 19 (7-9) : 422.

7. Basoglu T, Sahin M, Coskun C et al. Technetium-99m-tetrofosmin uptake in malignant lung tumours. *Eur J Nucl Med* 1995 ; 22 : 687-689.
8. Ştefănescu C. *Cercetări asupra potenţialului malign prin metode radioizotopice in vitro şi in vivo*, Teză de doctorat, Iaşi, 1996.
9. Ştefănescu C, Rusu V. *De la fizica şi biofizica radiofarmaceuticelor la imagini funcţionale şi moleculare*. Iaşi : Ed. Tehnopres, 2007.
10. Ştefănescu C, Rusu V. Radiopharmaceuticals cellular uptake mechanisms. *Rom J Biophys* 1996 ; 6 (1-2) : 110-121.
11. Ştefănescu C, Rusu V, Azoicăi D, Hurjui I. ^{99m}Tc isonitrils biophysical aspects in pulmonary tuberculosis. Part II. In vitro evaluluation of ^{99m}Tc MIBI cellular uptake mechanism. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2007 ; 111 (1) : 210-216.
12. Maublant J, Tc-99m MIBI, Tc-99m Tetrofosmin. In : Comet M, Vidal M editors. *Radiopharmaceutiques. Chemie des radiotraceus et applications biologiques*. Grenoble : Presses Universitaires de Grenoble, 1998 : 467-478.
13. Piwnica-Worms D, Holman LB et al. Noncardiac applications of hexakis - (alkyl isonitrile) Technetium-99m complexes. *J Nucl Med* 1990 ; 31 : 1166.
14. Ştefănescu C, Rusu V, Boişteanu D et al. ^{99m}Tc isonitrils biophysical aspects in pulmonary tuberculosis. Part I. *In vivo* evaluation of ^{99m}Tc MIBI and ^{99m}Tc Tetrofosmin biophysical localization mechanisms. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2006 ; 110(4) : 944-955.
15. Terán M, Savio E, Paolino A, Frier M. Hydrophilic and lipophilic radiopharmaceuticals as tracers in pharmaceutical development : in vitro – in vivo studies. *BMC Nucl Med* 2005 ; 5 : 5.
16. Yapar Z, Kibar M, Ozbarlas S et al. 99mTc-tetrofosmin scintigraphy in musculoskeletal tumours : the relationship between P-glycoprotein expression and tetrofosmin uptake in malignant lesions. *Nucl Med Commun* 2002 ; 23 (10) : 991-1000.
17. Muzzammil T, Moore MJ, Ballinger JR. In vitro comparison of sestamibi, tetrofosmin, and furifosmin as agents for functional imaging of multidrug resistance in tumors. *Cancer Biother Radiopharm* 2000 ; 15 (4) : 339-346.
18. Takekawa H, Tokaoka K, Tsukamoto E et al. Visualization of lung cancer with 99mTc-tetrofosmin imaging : a comparison with ^{201}Tl. *Nucl Med Commun* 1997 ; 18 : 341-345.
19. Kao CH, Hsieh JF, Tsai SC, Ho YJ, Changlai SP, Lee JK. Paclitaxel-Based chemotherapy for non-small cell lung cancer : predicting the response with 99mTc-tetrofosmin chest imaging. *J Nucl Med* 2001 ; 42 (1) : 17-20.
20. Shiau YC, Tsai SC, Wang JJ, Ho YJ, Ho ST, Kao CH. Predicting chemotherapy response and comparing with P-glycoprotein expression using technetium-99m tetrofosmin scan in untreated malignant lymphomas. *Cancer Lett* 2001 ; 170 (2) : 139-146.
21. Ciarmiello A, Del Vecchio S, Silvestro P, Potena MI, Carriero MV, Thomas R, et al. Tumor clearance of technetium 99m-sestamibi as a predictor of response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1998 ; 16 (5) : 1677-1683.
22. Takekawa H, Shinano H, Tsukamoto E et al. Technetium-99m-tetrofosmin imaging of lung cancer : relationship with histopathology. *Ann Nucl Med* 1999 ; 13 (2) : 71-75.
23. Kao CH, Chang Lai SP, Shen YY et al. Technetium-99m-tetrofosmin SPECT imaging of lung masses : a negative study. *J Nucl Med* 1997 ; 38 : 1015-1019.
24. Palmedo H, What can we expect from MDR breast cancer imaging with sestamibi? *J Nucl Med* 2002 ; 43 (4) : 526-530.
25. Degirmenci B, Kilinc O, Cirak KA et al, Technetium-99m tetrofosmin scintigraphy in pulmonary tuberculosis, *J Nucl Med* 1998 ; 39(7) : 2116-2120.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ARTICOLE ORIGINALE**

EVALUAREA IMUNOHISTOCHIMICĂ A TOPOIZOMERAZEI IIα CA FACTOR DE PROLIFERARE ÎN LIMFOAMELE GASTRICE

D. Ferariu[1], M. Danciu[2], Delia Ciobanu[2], F. Zugun[3],
Niculina Florea[1], Maria Sultana Mihailovici[2]
Spitalul Clinic de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi
1 Serviciul de Anatomie Patologică şi Prosectură
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
2 Disciplina de Morfopatologie
3 Disciplina de Imunologie

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF TOPOISOMERASE IIα AS PROLIFERATION FACTOR IN GASTRIC LYMPHOMA (Abstract): Topoisomerase IIα is a nuclear enzyme essential for DNA replication, with presumed prognostic value in various tumors. **Material and methods**: Study group included 34 gastric lymphomas. Tissue samples, formalin-fixed, paraffin-embedded, were investigated by immunhistochemistry using monoclonal antibodies anti Ki67 and anti topoisomerase IIα. **Results**: The 34 gastric lymphomas were previously diagnosed as follows: 14 MALT lymphoma and 20 aggressive lymphoma (17 diffuse large B-cell lymphoma, 2 diffuse large B-cell lymphoma with minor MALT component and 1 peripheral T-cell lymphoma). Both markers (Ki67 and topoisomerase IIα) were positive in 2-31% of tumor cells in MALT lymphoma, while in aggressive lymphoma up to 46-98% of tumor cells showed a positive expression. **Conclusion**: Similar expression of Ki67 and topoisomerase IIα recommends the utilization of topoisomerase IIα in determining the proliferation fraction in gastric lymphomas. In addition, we suggest that it might be possible to use topoisomerase II inhibitor agents in high grade gastric lymphomas. **Key words**: GASTRIC LYMPHOMA, KI67, TOPOISOMERASE IIα

Cercetarea fundamentală este astăzi din ce în ce mai mult orientată către descifrarea mecanismelor moleculare şi genetice ale tumorilor cu scopul de a înţelege etapele critice ce conduc la apariţia şi promovarea acestora. Înţelegerea acestor mecanisme oferă şansa descoperirii unor noi mijloace de luptă împotriva cancerului.

O mare importanţă este acordată identificării de noi markeri capabili să ofere indicii privind agresivitatea tumorală şi răspunsul la tratamentul oncologic. Din acest punct de vedere o mare atenţie s-a acordat, în ultimii ani, descrierii mecanismelor de acţiune ale unor enzime nucleare implicate direct în procesul de proliferare. O ţintă preferată a cercetărilor o reprezintă unele dintre enzimele nucleare asociate direct cu procesele de replicare a ADN-ului.

Din această categorie fac parte şi topoizomerazele, enzime responsabile de o serie de evenimente nucleare, rolul lor fiind în mare parte cunoscut. În repaus, ADN-ul cromosomic are o structură compactă complexă, cu numeroase bucle, noduri şi legături ce menţin această structură. Replicarea ADN necesită modificări topografice complexe ce sunt realizate prin intermediul topoizomerazelor.

Topoizomeraza II prezintă un interes particular datorită abilităţii acesteia de a desface bucle alăturate de ADN, fiind esenţială în procesul de separare a lanţurilor ADN (1).

În timpul ciclului celular topoizomeraza II atinge niveluri maxime în fazele G_2 şi M. Deoarece celulele tumorale îşi menţin o expresie ridicată a topoizomerazei II şi în interfază, aceasta ar putea fi utilizată ca marker al agresivităţii tumorale (2).

Topoizomeraza II prezintă două forme, α şi β, cu structură şi funcţii foarte apropiate. Date experimentale indică faptul că toate funcţiile topoizomerazei legate de ciclul celular necesită prezenţa topoizomerazei IIα, izoenzima α nejucând un rol esenţial (3).

Din aceste considerente topoizomeraza IIα (Topo IIα) constituie o ţintă predilectă a cercetării, un accent particular fiind pus pe testarea valorii sale ca factor de proliferare şi prognostic şi pe identificarea mijloacelor de blocare a activităţii sale, cu efecte terapeutice.

În ultimii ani au fost comunicate unele studii privind expresia Topo IIα în diferite tipuri de tumori, patologia limfoproliferativă fiind mai slab reprezentată.

SCOP

Studiul îşi propune evaluarea expresiei imunohistochimice a Topo IIα pe un lot de limfoame gastrice comparativ cu un marker de proliferare consacrat - Ki67.

MATERIAL ŞI METODĂ

Lotul de studiu a fost constituit din 34 de cazuri de limfom gastric primitiv :

- 17 cazuri de limfoame difuze cu celule mari B ;
- 14 limfoame gastrice de zonă marginală (LZM)
- 2 limfoame cu celule mari B, cu componentă MALT minoritară ;
- 1 limfom cu celule T periferice.

Materialul biologic a provenit de la pacienţii operaţi în clinicile Chirurgie I şi III ale Spitalului Clinic de Urgenţă "Sf. Spiridon" Iaşi în perioada : 1 ianuarie 2000 - 31 decembrie 2006.

Marcajele imunohistochimice au fost realizate prin tehnica avidin-biotin complex, utilizând reactivi de provenienţă Dako. Blocurile multitisulare au fost realizate manual.

Evaluarea marcajelor, s-a făcut prin numărarea celulelor din trei câmpuri microscopice cu obiectivul 40, din ariile cu densitatea cea mai mare a marcajului. Rezultatele marcajelor imunohistochimice au fost prelucrate statistic în vederea stabilirii de corelaţii semnificative.

REZULTATE

Marcajul Ki67 pe ţesuturile martor a fost pozitiv în special la nivelul centrilor germinativi ai foliculilor limfoizi, fiind marcaţi nucleii celulelor cu ritm rapid de proliferare. Marcajul cu Ki67 a conferit centrilor germinativi un aspect polarizat, fiind subliniat polul proliferativ. Ki67 este o proteină nucleară exprimată de celule proliferative aflate în toate fazele active ale ciclului celular (G_1, S, G_2 şi M), fiind absentă în Go.

Marcajul Topo IIα a identificat celulele cu ritm rapid de proliferare de la nivelul centrilor geminativi, aria interfoliculară prezentând izolate semnale pozitive, cu densitate şi distribuţie similară marcajului cu Ki67 Centrii germinativi au avut un aspect polarizat, aria cu cele mai multe marcaje pozitive fiind corespunzătoare polului proliferativ al centrului germinativ. Topo IIα prezintă valori maxime în fazele G2 şi M ale ciclului celular. Luând în considerare aspectele menţionate, marcajele imunohistochimice pentru cei doi markeri pe ţesutul martor au fost considerate optime.

Expresia Ki67 în LZM a fost variabilă, prezentând valori cuprinse între 2-30% dintre celulele tumorale. Au fost, în general, marcate celulele de talie mai mare, corespunzătoare celulelor cu alură blastică din proliferarea tumorală. Celulele tumorale marcate pozitiv au fost dispersate, rareori find marcate mici grupuri de celule adiacente, acest aspect fiind întâlnit în cazurile în care expresia Ki67 era în jurul valorii de 20%. Componenta cu celulă mică a celor două limfoame mixte a prezentat un marcaj similar cu cel al limfoamelor de zonă marginală.

Expresia Ki67 în limfoamele cu celule mari B a fost cuprinsă între 46-95% din celulele tumorale. Spre deosebire de LZM celulele marcate pozitiv formau cel mai adesea plaje compacte. Un aspect similar a fost descris şi în componenta cu celule mari a limfoamelor mixte, precum şi în limfomul cu celule T periferice.

Expresia Topo IIα în LZM a prezentat un tablou similar celui realizat de Ki67, proporţia celulelor marcate pozitiv fiind situată între 2-31%. Şi în acest caz au fost marcate doar celule de talie mare dispersate, corespunzătoare celulelor cu caracter blastic evidente pe coloraţia de rutină. Componenta cu celule mici a limfoamelor mixte a prezentat un marcaj similar celorlalte LZM pure. Expresia Topo IIα în limfoamele cu celule mari B a variat între 50-98%. Limfomul cu celule T periferice a prezentat 61% dintre celule pozitive.

Limfoamele gastrice mixte au prezentat 40-41% celule pozitive, media fiind calculată luând în consideraţie rezultatele obţinute pe cele două componente tumorale.

Analiza statistică

Valoarea procentuală a expresiei Ki67 şi Topo IIα a fost analizată comparativ în vederea evidenţierii comportamentului celor doi markeri în cele două mari categorii de limfoame gastrice incluse în lotul de studiu: LZM şi limfoamele cu morfologie agresivă (LCM), în această din urmă categorie fiind incluse limfoamele difuze cu celule mari B şi limfomul cu celule T periferice.

Rezultatele obţinute au fost utilizate pentru calcularea valorilor medii estimate precum şi a intervalelor de încredere statistică de 95%, pentru cei doi markeri, în cele două categorii de limfoame, acestea fiind prezentate în tabelul I.

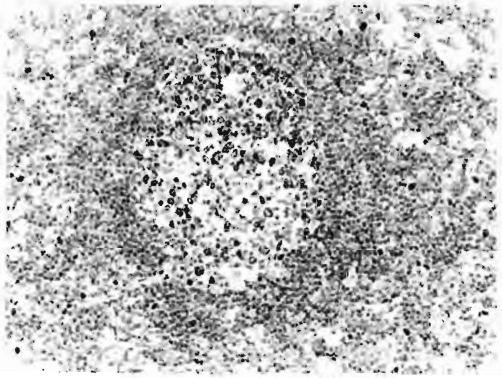


Fig. 1. Ki67, ganglion limfatic, ob. x20

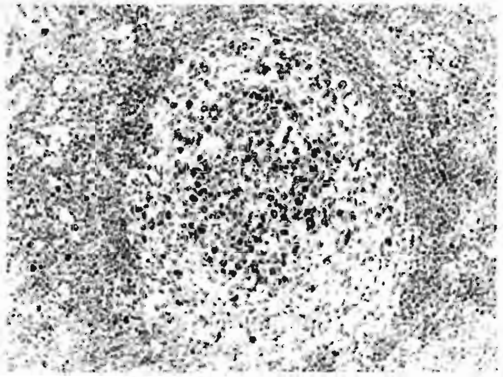


Fig. 2. Topo IIα ganglion limfatic, ob. x20

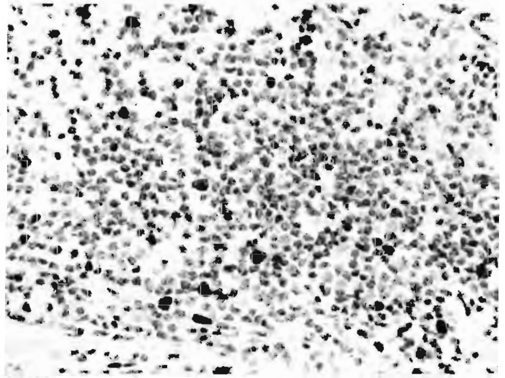


Fig. 3. Topo IIα, limfom de zonă marginală, ob. x20

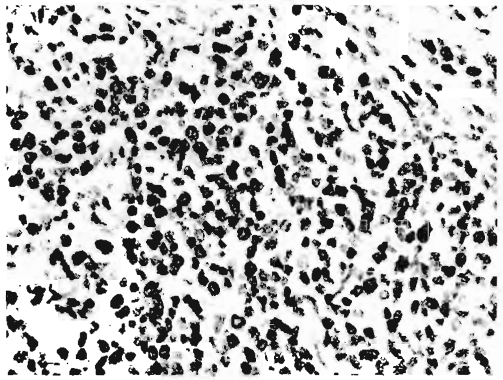


Fig. 4. Topo IIα, limfom cu celule mari B, ob. x20

TABELUL I

Valori medii şi deviaţii standard pentru expresia Ki67 şi TopoIIα

		Ki67		**Topo IIα**	
		LZM	**LCM**	**LZM**	**LCM**
medie	valoare estimată	14.2857	75.5556	13.9286	75.6111
	interval de încredere 95%	[8.3135 20.2579]	[69.6908 81.4203]	[8.0253 19.8318]	[70.0679 81.1543]
deviaţie standard	valoare estimată	10.3435	11.7934	10.2241	11.1468
	interval de încredere 95%	[7.4986 16.6639]	[8.8496 17.6800]	[7.4120 16.4715]	[8.3644 16.7107]

Aplicând testul Lilliefors, se obţine acceptarea ipotezei nule, conform căreia măsuratorile efectuate pentru Ki67 şi Topo IIα sunt normal distribuite, dacă se consideră eşantioane separate pentru fiecare diagnostic în parte: LZM sau LCM.

Au fost aplicate două teste statistice pentru a verifica dacă există diferenţe semnificative statistic între expresia Ki67 şi Topo IIα.

- Testul Kruskal-Wallis:
  - în cazul Ki67: $\kappa^2 = 22{,}93$ şi $P(k > \kappa^2) = 1{,}68 \cdot 10^{-6}$, ceea ce înseamnă că ipoteza nulă poate fi rejectată cu un grad mare de încredere (>95%);
  - în cazul Topo IIα: $\kappa^2 = 22{,}93$ şi $P(k > \kappa^2) = 1{,}67 \cdot 10^{-6}$, ceea ce înseamnă că ipoteza nulă poate fi rejectată cu un grad mare de încredere (>95%).
- Testul ANOVA:
  - în cazul Ki67: $P(k > \kappa^2) = 8{,}8 \cdot 10^{-16}$, ceea ce înseamnă că ipoteza nulă poate fi rejectată cu un grad mare de încredere (>95%);
  - în cazul Topo IIα: $P(k > \kappa^2) = 2{,}2 \cdot 10^{16}$, ceea ce înseamnă că ipoteza nulă poate fi rejectată cu un grad mare de încredere (>95%).

Analiza demonstrează că cei doi markeri testaţi se comportă statistic în manieră similară în cele două categorii de limfoame gastrice ce au compus lotul de studiu. Nu există diferenţe semnificative între expresia celor doi markeri în limfoamele gastrice analizate.

DISCUŢII

Expresia Ki67 şi Topo IIα în lotul de limfoame de zonă marginală a avut valori similare, scăzute. Proporţia redusă a celulelor marcate pozitiv în această categorie de limfoame este în concordanţă cu natura indolentă a acestora, fiind recunoscut faptul că pot evolua mulţi ani fără o simptomatologie evidentă, având în prima fază un caracter localizat. Considerăm indispensabil marcajul imunohistochimic pentru evidenţierea fracţiei de proliferare, evaluarea morfologică clasică fiind dificilă în contextul unei proliferări tumorale cu o componentă activă redusă.

Marcajul imunohistochimic facilitează identificarea de agregate de celule blastice, pe fondul de proliferare cu celulă mică al limfoamelor de zonă marginală. Identificarea de agregate de peste 20 de celule mari atrage atenţia asupra posibilităţii transformării într-un limfom agresiv.

Proporţia de celule marcate pozitiv cu Ki67 în cazul limfoamelor de zonă marginală s-a încadrat între limitele citate de literatură pentru această categorie de limfoame (4).

În cazul limfoamelor agresive cei doi markeri comparaţi au fost pozitivi în peste 40% dintre celulele tumorale, literatura menţionând valori de peste 40% ale Ki67 în limfoamele cu celule mari (4).

Diferenţele între expresia IHC a celor doi markeri au fost de câteva procente (+/-5), pentru acelaşi caz, uneori în favoarea Ki67, alteori în favoarea Topo IIα. Acest aspect ar putea fi justificat de variabilitatea de la o secţiune la alta a populaţiei tumorale, diferenţele fiind mici.

Deoarece sunt puţine studii care au testat valoarea Topo IIα ca factor de proliferare se impune testarea acesteia pe o gamă cât mai largă de tumori pentru a vedea în ce măsură aceasta are aceeaşi valoare şi în alte cazuri.

Aspectul este foarte important deoarece mijloacele de tratament oncologic disponibile astăzi includ şi o serie de chimioterapice inhibitoare ale activităţii topoizomerazei II.

Trebuie subliniat că topoizomerazele sunt prezente în mod firesc în celulele normale sau tumorale aflate în replicare. Acest aspect este important deoarece simpla detectare a Topo IIα într-o populaţie tumorală nu are în mod necesar semnificaţia unei supraexpresii enzimatice, fapt ce este confirmat de un studiu recent (5) care arată că peste 60% dintre adenocarcinoamele ductale pancreatice prezintă supraexpresia enzimei, acestea fiind cazurile susceptibile de a primi tratament cu inhibitori de topoizomerază IIα.

Expresia imunohistochimică a Topo IIα a fost studiată într-un număr limitat de tumori pancreatice (5), ovariene, (6), pulmonare (7), cerebrale (8), limfoame Hodgkin (9) sau non-Hodgkin (10), autorii identificând în majoritatea cazurilor corelaţii între expresia enzimei şi prognostic sau corelaţii semnificative cu alţi factori de proliferare.

Studiul nostru realizează în premieră analiza expresiei imunohistochimice a Topo IIα în limfoamele gastrice, corelaţiile cu expresia Ki67 demonstrând utilitatea acestui marker pentru determinarea fracţiei de proliferare.

CONCLUZII

Analiza comparativă a Ki67 şi Topo IIα recomandă utilizarea Topo IIα pentru determinarea fracţiei de proliferare în limfoamele gastrice şi indică posibilitatea utilizării inhibitorilor de Topo IIα în limfoamele gastrice cu grad înalt de malignitate.

BIBLIOGRAFIE

1. Wang JC. DNA topoisomerases. *Ann Rev Biochem* 1996 ; 65 : 635-692.
2. Yabuki N, Sasano H, Kato K et al. Immunohistochemical study of DNA topoisomerase II in human gastric disorders. *Am J Pathol* 1996 ; 149 : 997-1007.
3. Wang JC. Cellular roles of DNA topoisomerase a molecular perspective. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002 ; 3 : 430-440.
4. Jaffe ES, Lee Harris N, Stein H, Vardiman JW. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon : IARC Press, 2001.
5. Tsiambas E, Karameris A, Tiniakos DG, Karakitsos P. Evaluation of topoisomerase IIa expression in pancreatic ductal adenocarcinoma : a pilot study using chromogenic in situ hybridization and immunohistochemistry on tissue microarrays. *Pancreatology* 2007 ; 7 (1) : 45-52.

6. Schindlbeck C, Hantschmann P, Zerzer M et al. Prognostic impact of KI67, p53, human epithelial growth factor receptor 2, topoisomerase IIalpha, epidermal growth factor receptor, and nm23 expression of ovarian carcinomas and disseminated tumor cells in the bone marrow. *Int J Gynecol Cancer* 2007 ; 17 (5) : 1047-1055.
7. Dingemans AM, Witlox MA, Stallaert RA, van der Valk P, Postmus PE, Giaccone G. Expression of DNA topoisomerase IIalpha and topoisomerase IIbeta genes predicts survival and response to chemotherapy in patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003 ; 5 (8) : 2048-2058.
8. Faria MH, Gonçalves BP, do Patrocínio RM, de Moraes-Filho MO, Rabenhorst SH. Expression of Ki-67, topoisomerase IIalpha and c-MYC in astrocytic tumors : correlation with the histopathological grade and proliferative status. *Neuropathology* 2006 ; 26 (6) : 519-527.
9. Wang J, Taylor CR. Apoptosis and cell cycle-related genes and proteins in classical Hodgkin lymphoma : application of tissue microarray technique. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2003 ; 11 (3) : 206-213.
10. Provencio M, Corbacho C, Salas C et al. The topoisomerase IIalpha expression correlates with survival in patients with advanced Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003 ; 9 (14) : 5430-5431.

NOUTĂŢI

INFECŢIILE SISTEMULUI NERVOS CENTRAL ÎN TIMPUL COPILĂRIEI ŞI RISCUL PENTRU AFECŢIUNI PSIHOTICE ULTERIOARE

Dalman C et al., de la Departamentul de Epidemiologie Psihiatrică al Institutului Karolinska, Stockholm, Suedia, au efectuat un studiu de cohortă pe un număr de 1,2 milioane copii suedezi născuţi între 1973 şi 1985, cu scopul de a investiga dacă există un risc crescut pentru schizofrenie şi alte psihoze nonafective la subiecţii care au suferit infecţii bacteriene sau virale în perioada copilăriei. 2.435 de copii cu vârste între 0 şi 12 ani au fost spitalizaţi pentru infecţii bacteriene ale SNC şi 6.550 pentru infecţii virale. 2.269 subiecţi au fost spitalizaţi pentru afecţiuni psihotice nonafective începând cu vârsta de 14 ani, iar 23 dintre aceştia au fost diagnosticaţi cu infecţii ale SNC în copilărie. Vârsta la debutul psihozei s-a situat, cel mai frecvent, între 18 şi 26 ani. Rezultatele grupului de cercetători au arătat că riscul pentru psihoze nonafective a fost legat de infecţiile SNC cu virus urlian (RR = 2,7) şi citomegalovirus (RR = 16,6). Nu s-a găsit nici o asociere cu infecţiile bacteriene (Dalman C, Allebeck P, Gunnell D et al. Infections in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one milion Swedish subjects. *Am J Psychiatry* 2008 ; 165 (1) : 59-65).

Mioara Matei

VARIABILITATEA GENICĂ A CANALELOR CARDIACE DE SODIU ŞI MOARTEA SUBITĂ CARDIACĂ LA FEMEI

Recent, riscul de moarte subită cardiacă a fost asociat cu modificări ale genelor ce codifică canalele membranare de la nivel cardiomiocitar. S-au studiat, în principal, 5 gene ce codifică regiuni ale diverselor canale transmembranare (SCN 5A, KCN Q_1, KCN H_2, KCN E_1, KCN E_2), la 113 cazuri de moarte subită ale unor pacienţi de sex feminin, ce făceau parte din studiul Nurses Health Study şi, respectiv, de sex masculin, din studiul Health Professional Follow-up Study. La pacienţii de sex masculin nu s-au identificat mutaţii specifice dar 6 din 60 femei (10%) au prezentat perturbări ale structurii genice ale canalelor de sodiu, unele asociate şi cu sindromul QT lung, mai ales cele de tip SCN 5A (Albert CM, Nam EG et al. Cardiac sodium channel gene variants and sudden cardiac death in women. *Circulation* 2008 ; 117 : 16-23).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

STUDIUL PREZENŢEI METALOPROTEINAZEI 9 LA NIVELUL PROCESELOR ADERENŢIALE CRONICE INTRAPERITONEALE

R.A. Pintilie[1], **Daniela Constantinescu**[2], **Carmen Grigoriu**[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Obstetrică-Ginecologie,
3. Disciplina de Medicină Legală
2. Institutul de Sănătate Publică Iaşi

MATRIX METALLOPROTEINASE 9 PRESENCE ON ADHERENTIAL INTRAPERITONEAL PROCESSES (Abstract): Matrix metalloproteinases (MMP) represents a zinc-dependent proteolytic enzyme multigenic family, directly involved in embryogenesis, some physiological and pathological processes, occurring in the adult organism. For physiological processes, MMP play roles in proliferation, tissue remodeling, wound healing, angiogenesis. **Aim**: The aim of the study was to analyze the MMP9 presence in chronic peritoneal adherences, following the correlation between the presence of this metalloproteinase and the evolution of the connective tissue remodeling process from intraperitoneal adherences. **Material and methods**: 6 women formed the study group: 5 operated for gynecological pathologies (with harvested tissue fragments from the adherences) and one patient with harvested tissue from normal peritoneum. Fragments were fixed in 10% formalin and processed for the microscopic exam in routine staining and immunohistochemistry, using anti-MMP9 antibodies and a technique based on peroxidaze-antiperoxidase system. The immunohistochemical reaction was quantified by using image analysis software. **Results**: The morphological structure of the adherences was mainly represented by fibrous tissue, sometimes associated with elements of muscle and adipose tissues. For the fibrous connective tissue, the collagen component was characterized by a fascicular organization with different orientations and with fibrillar aspect. Semiquantitative analysis showed increased levels for MMP9 in adherences by comparison with normal peritoneum (mean ration for the MMP9-positive area: 26.5% for the adherences versus 15.93% normal peritoneum). **Conclusion**: The intraperitoneal adherences with more than 1 year of evolution show an extension of the remodeling processes that can lead to the possible resolution.

Key words: MMP9, INTRAPERITONEAL ADHERENCE, QUANTITATIVE SEMI-AUTOMATED IMAGE ANALYSIS

Chirurgia ginecologică este ramura chirurgicală cea mai susceptibilă de a produce leziuni ureterale (1,2). Procentul acestor leziuni creşte odată cu supraspecializarea oncologică, ramură în care principiile de radicalitate stipulate pentru practica de specialitate predispun la un procent crescut al leziunilor urinare pelvine (3,4). Grija cu care ginecologul operează în sectorul pelvin este pe deplin justificată de rapoartele anatomice intime pe care elementele aparatului genital le au cu componentele uretero-vezico-uretrale ale aparatului urinar. Situaţia intraoperatorie (5) este complicată suplimentar în condiţiile în care ţesuturile pelvine sunt iradiate preoperator - ceea ce modifică structura şi reactivitatea ţesuturilor retroperitoneale - sau se constată prezenţa aderenţelor peritoneale postoperatorii sau endometriozice, situaţie care schimbă rapoartele anatomice şi îngreunează considerabil actul chirurgical.

Scopul studiului a fost de a analiza MMP9 în procesele aderenţiale cronice intraperitoneale, urmărindu-se corelarea prezenţei acestei metaloproteinaze cu evoluţia procesului de remodelare a ţesutului conjunctiv din teritoriul aderenţial. Cercetarea realizată aduce elemente certe de noutate, în literatura de specialitate nefiind publicate rezultate referitoare la prezenţa şi activitatea metaloproteinazelor într-o astfel de localizare.

MATERIAL ŞI METODE

Studiul a fost efectuat pe materiale biologice recoltate intraoperator de la 5 paciente cu patologie ginecologică (metroragie în postmenopauză, neoplasm col uterin - 2 cazuri, uter fibromatos, endometrioză), operate în Clinica IV Obstetrică Ginecologie. Toate cele 5 cazuri au prezentat aderenţe intraperitoneale cu evoluţie mai mare de 1 an, consecutive unor procese patologice abdominale din care 4 au fost rezolvate anterior prin intervenţie chirurgicală. S-au prelevat fragmente tisulare reprezentând aderenţe laxe, cu lungime de aproximativ 1 cm. O pacientă operată pentru uter fibromatos a reprezentat cazul martor, fiind fără intervenţii chirurgicale în antecedente şi fără aderenţe peritoneale; de la această pacientă s-a recoltat peritoneu normal. Fragmentele au fost fixate în formalină şi prelucrate pentru examenul microscopic, în coloraţii standard şi imunohistochimice. Tehnica de imunohistochimie a utilizat anticorpi anti-MMP9 (Biorad Lab), cuplaţi cu sistem de detectare peroxidază-DAB. Pentru analiza semicantitativă a fost utilizat programul ImageJ vers. 1.38x, disponibil în regim gratuit (6), imaginile fiind preluate printr-un sistem de achiziţie ataşat la un microscop Olympus. Deoarece nivelele de colorare dintre zonele pozitive imunohistochimic şi fondul imaginii au fost dificil de diferenţiat, pentru separarea numai a nuanţelor responsabile de imunomarcare am apelat la o tehnică de separare de tip deconvoluţie de culoare (7,8,9,10), utilă pentru evaluarea automată a marcării imunohistochimice în cazul în care imaginile au o nuanţă alta decât gri. Am utilizat un filtru dezvoltat special pentru colorarea cu DAB, având şi un sistem de control care determină necesitatea unei recalibrări pe baza probelor pozitive/negative din punct de vedere al marcării (fig. 1). Evaluarea MMP9 s-a realizat, pentru fiecare caz, pentru un număr de 15-20 de imagini reprezentative, corespunzătoare pentru 15-20 de câmpuri microscopice MMP9 pozitive, calculându-se o valoare medie procentuală.

REZULTATE

Examenul histopatologic al fragmentelor aderenţiale a relevat, pentru cazurile patologice, următoarele aspecte:

- cazul 1 (aderenţe colo-ligamentare): ţesut conjunctivo-adipos, componenta conjunctivă fibroasă fiind constituită din benzi de colagen paralele între ele, orientate în acelaşi sens, situate submezotelial; capilare prezente în număr redus, absenţa elementelor inflamatorii; imunohistochimic reacţie pozitivă pentru MMP9 (fig. 2).
- cazul 2 (aderenţe entero-parietale): ţesut conjunctiv-adipos, fără elemente inflamatorii, slab vascularizat ; ţesutul conjunctiv a avut un caracter dens, fibros, acelular, fibrele de colagen formând fascicule de grosimi diferite, cu aceeaşi orientare; imunohistochimic reacţie pozitivă pentru MMP9 (fig. 3).
- cazul 3 (aderenţe utero-apendiculare): ţesut conjunctivo-vascular, puţin celularizat, constituit din benzi de colagen organizate în mici fascicule dispuse în direcţii diferite - unele cu dispoziţie perivasculară, altele paralele cu mezoteliul; imunohistochimic reacţie pozitivă pentru MMP9 (fig. 4).

Fig. 1. Delimitarea zonei de interes (ROI – region of interest) pentru care se realizează evaluarea semicantitativă

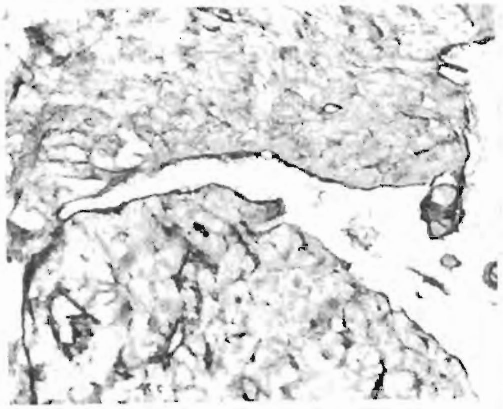


Fig. 2. Prezenţa MMP9 la nivelul aderenţelor intraperitoneale utero-epiploice. Cazul 4. IHC x40.

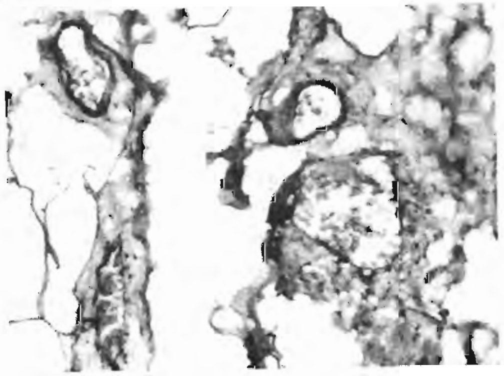


Fig. 3. Prezenţa MMP9 la nivelul aderenţelor intraperitoneale entero-parietale, ca urmare a unui proces inflamator cronic. Cazul 2. IHC x40

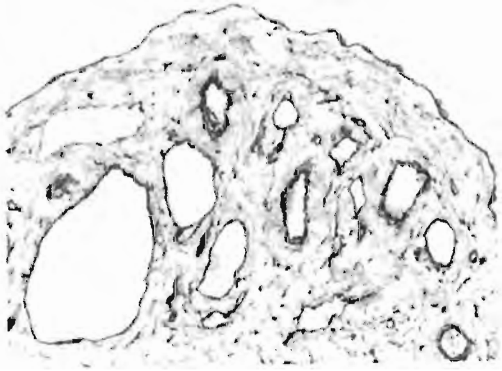


Fig. 4. Prezenţa MMP9 la nivelul aderenţelor intraperitoneale utero-apendiculare. Cazul 3. IHC x40

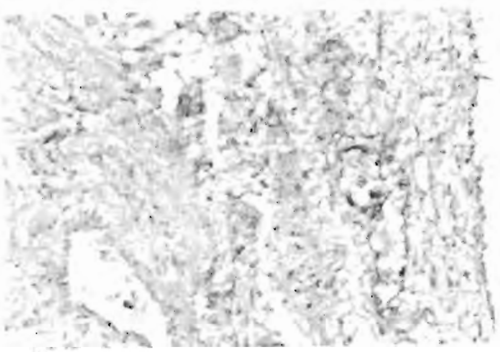


Fig. 5. Prezenţa MMP9 la nivelul aderenţelor intraperitoneale utero-ovariene, ca urmare a prezenţei unui proces endometriozic. Cazul 1. IHC x40

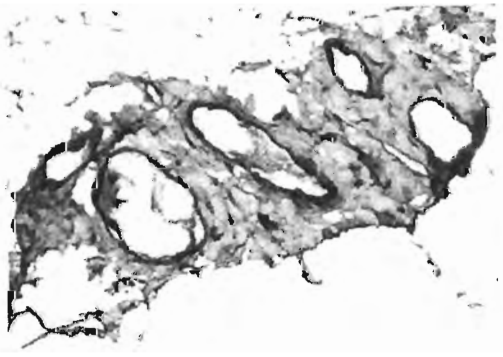


Fig. 6. Prezenţa MMP9 la nivelul aderenţelor intraperitoneale colo-ligamentare (ligament larg stâng). Cazul 5. IHC x40

TABELUL I

Valorile suprafeţelor, densităţii optice şi ale mediei suprafeţelor pentru secţiunile de la cazurile luate în studiu

	Label	Area	IntDen*	%Area	Mean area %
1	Caz 01	158394	40390470	19.347	**26.463**
2	Caz 02	136035	34688925	16.616	
3	Caz 03	184165	46962075	22.495	
4	Caz 04	486454	124045770	59.419	
5	Caz 05	118192	30138960	14.437	
6	Caz 06	272003,2	33272298	15.938	**15.938**

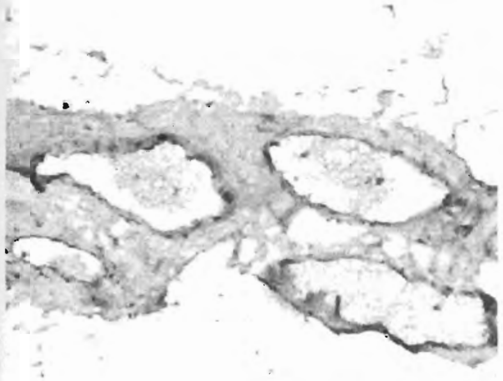


Fig. 7. Exemplificarea unui fragment de ţesut aderenţial, colorat cu hematoxilina Mayer (control negativ) x40

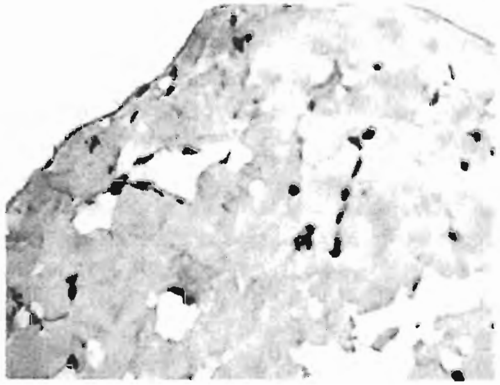


Fig. 8. Exemplificarea unui fragment de ţesut peritoneal normal, colorat cu hematoxilina Mayer (control negativ) x40

- cazul 4 (aderenţe utero-epiploice): structură compactă formată din ţesut conjunctiv, ţesut adipos şi ţesut muscular, tapetată de un epiteliu cubic simplu, cu nuclei fără atipii; componenta conjunctivă, de tip fibros, a fost formată din benzi de colagen relativ groase, cu celularitate redusă, organizate în fascicule scurte, paralele între ele, cu tentinţa unei orientări uniforme; imunohistochimic - reacţie pozitivă pentru MMP9 (fig. 5).

- cazul 5 (aderenţe utero-ovariene): ţesut conjunctivo-vascular tapetat de un epiteliu cubic unistratificat, fără leziuni displazice, uneori formând incluziuni peritoneale; fibrele de colagen nu au prezentat organizare fasciculară cu tendinţă la fibroză, dar au fost observate condensări perivasculare; s-a remarcat o celularizare intensă, predominant de tip fibroblastic, numeroase elemente vasculare (artere mici, arteriole şi capilare) şi câteva elemente inflamatorii (limfocite şi rare eozinofile); imunohistochimic, reacţie pozitivă pentru MMP9 (fig. 6).

În baza tabloului histopatologic al fiecărui caz individual, am apreciat că structura morfologică a fragmentelor aderenţiale a fost reprezentată predominant de ţesut conjunctiv fibros, uneori asociat cu elemente de ţesut muscular şi adipos. Pentru ţesutul conjunctiv fibros, componenta colagenică a fost caracterizată printr-o organizare fasciculară cu orientări în planuri diferite şi aspect de întrepătrundere fibrilară (fig. 7).

Cazul 6, martor, a prezentat o structură peritoneală cu elemente histologice tipice: epiteliu simplu pavimentos, tapetând o bandă fină de ţesut conjunctiv lax.

Tabelul I prezintă, pentru fiecare caz în parte, valorile obţinute în evaluarea semicantitativă a MMP9 în teritoriul aderenţial şi, respectiv, în peritoneul normal. Valoarea medie procentuală a ariei imunomarcate pentru MMP9 a fost de 26,5% pentru aderenţe, comparativ cu 15,93 % pentru peritoneul normal.

DISCUŢII

Cazurile introduse în studiul nostru au fost selectate în funcţie de durata evoluţiei procesului aderenţial intraperitoneal, şi anume cel puţin 1 an.

Dezvoltarea şi organizarea acestor aderenţe s-a efectuat prin proliferarea ţesutului conjunctiv, cu orientarea fibrelor de colagen în direcţia liniilor de forţă determinate de solicitările realizate de viscerele intraperitoneale între care s-a realizat procesul aderenţial. Vascularizaţia acestora a evoluat în funcţie de stadiul sau vârsta aderenţelor, cu o scădere a densităţii vasculare pe măsură ce aderenţele au avut o vechime mai mare. Epiteliul peritoneal care a tapetat structurile nou-formate nu a prezentat particularităţi şi nici atipii celulare.

Determinările prezenţei şi evaluarea semicantitativă a reacţiei imunohistochimice pozitive pentru MMP9 implică o apreciere a activităţii de remodelare a ţesutului aderenţial, în contextul echilibrului dinamic preconizat a exista la acest nivel. Toate cazurile introduse în studiu au evidenţiat prezenţa MMP9. Determinarea activităţii acesteia prin studiu semicantitativ a arătat o creştere semnificativă, indiferent de vechimea aderenţelor, raportat la martorul reprezentat de ţesutul peritoneal normal, fără leziuni cicatriceale sau aderenţiale (fig. 8). Aceste date susţin ideea că, în urma procesului de constituire a aderenţelor peritoneale, ţesutul astfel format are capacitate crescută de remodelare, instituindu-se în timp un echilibru dinamic între formarea ţesutului conjunctiv şi resorbţia acestuia. Observaţiile noastre au fost similare indiferent de topografia aderenţelor, respectiv interviscerale sau viscero-parietale. Consecutiv, rezultatele obţinute în prezentul studiu deschid perspective asupra posibilităţilor de influenţare a echilibrului formare – resorbţie de colagen, în sensul creşterii componentei litice (resorbtive) în detrimentul celei formatoare (constructive), rezultând în final “dispariţia” aderenţelor care constituie un factor de risc intraoperator pentru leziunile viscerale abdominale.

CONCLUZII

Studiul aderenţelor intraperitoneale ca factor de risc pentru leziunile viscerelor abdominale constituie o necesitate pentru chirurgia viitorului. Raportat la peritoneul normal, prezenţa semnificativ crescută a MMP9 a fost asociată cu o activitate de tip litic, indiferent de vechimea aderenţelor şi de etiologia acestora. Aceasta demonstrează o remodelare continuă, astfel încât se poate miza pe modificarea farmacologică sau genică a echilibrului dintre formarea şi resorbţia ţesutului conjunctiv nou format.

BIBLIOGRAFIE

1. Giberti C, Germinale F, Lillo M, Bottino P, Simonato A, Carmignani G. Obstetric and gynaecological ureteric injuries: treatment and results. *Br J Urol* 1996 ; 77 (1) : 21-26.
2. Viville C, Fournier R. Traumatic lesions of the ureter in pelvic surgery. 9 cases. *J Urol Nephrol* 1978 ; 84 (1-2) : 7-16.
3. Durdević S, Popov M, Stojanović S, Joksimović N. Ureteral injuries in gynaecologic oncology surgery procedures. *Med Pregl* 2003 ; 56 (5-6) : 257-262.

4. Hoffman MS, Tebes SJ. Ureteral surgery performed by a university gynecologic oncology service. *Am J Obstet Gynecol* 2006 ; 195 (2) : 562-566.
5. Pricop M.*Oncologie ginecologică clinică*. Iaşi : Ed. Polirom, 2000, 394-395.
6. http : //rsb.info.nih.gov/ij/ ImageJ, vers.1.38x, 2003.
7. Rigatti P, Pompa P. Pathology of the gynecologic ureter. *Arch Ital Urol Androl* 2002 ; 74 (1) : 21-22.
8. Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Anal Quant Cytol Histol* 2001 ; 23 : 291-299.
9. Papadopulos F, Spinelli M, Valente S, Foroni L, Orrico C, Alviano F, Pasquinelli G. Common tasks in microscopic and ultrastructural image analysis using ImageJ. *Ultrastruct Pathol* 2007 ; 31 (6) : 401-407.
10. Boushell LW, Kaku M, Mochida Y, Bagnell R, Yamauchi M. Immunohistochemical localization of matrixmetalloproteinase-2 in human coronal dentin. *Arch Oral Biol* 2008 ; 53 (2) : 109-16.

NOUTĂŢI

PREGATIREA LOJEI RADICULARE ÎN VEDEREA RECONSTITUIRII DENTARE CU AJUTORUL PIVOŢILOR

Prepararea lăcaşului destinat fixării unui pivot radicular şi îndepărtarea detritusului detinar remanent de pe pereţii dentinari constituie cheia succesului reconstituirilor corono-radiculare. În ultimii ani au fost propuse numeroase tehnici şi soluţii de irigare endodontică în scopul obţinerii unui spaţiu cu o geometrie adecvată, înconjurat de o dentină aptă pentru adeziunea cu filmul de ciment utilizat pentru fixarea pivotului. Autorii studiului au evaluat două tipuri de freze (Largo drill - Largo ; Dentsply, respectiv MTwo-PF drill - Sweden&Martina) şi 5 regimuri de curăţire utilizate în debridarea spaţiului endodontic (EDTA, ultrasunete, ultrasunete + EDTA, acid fosforic şi apa distilată). Suprafaţa astfel pregătită a fost observată la microscopul electronic cu baleiaj pentru a evalua prezenţa detritusului destinar remanent şi gradul de deschidere al tubulilor. În cazul utilizării EDTA-ului singular sau în asociere cu ultrasunete şi a acidului fosoric, rezultatele au fost comparabile pentru MTwo-PF ($p>0,05$). Ultrasunetele utilizate singular au determinat o curăţire ineficientă, similară celei din grupul de control ($p<0,05$). Rezultatele arată că ambele tipuri de freze au determinat rezultate similare, optime în cazul utilizării EDTA în asociere cu ultrasunete (Coniglio I, Magni E, Goracci C, Radovic IR., Carvalho CA, Grandini S, Ferrari M. Post space cleaning using a new nickel titanium endodontic drill combined with different cleaning regimens. *J Endodontics* 2008 ; 34 (1) : 83-86).

Gianina Iovan

ADIPONECTINA PREVINE LEZIUNEA ISCHEMICĂ CEREBRALĂ PRINTR-UN MECANISM DEPENDENT DE SINTEZA ENDOTELIALĂ DE NO

Adiponectina este o proteină plasmatică sintetizată la nivelul ţesutului adipos, care ar putea avea efecte cardiovasculare favorabile. Nivelul plasmatic scăzut al adiponectinei este asociat cu o mortalitate crescută după accidentul vascular cerebral ischemic. Studiul experimental s-a desfăşurat pe şoareci adiponectin-deficienţi (APN-K_0), care au fost investigaţi la o oră după ocluzia arterei cerebrale medii şi, apoi, la 23 h după reperfuzie. Faţă de exemplarele normale, şoarecii deficienţi au dezvoltat infarcte cerebrale extinse şi sechele neurologice. Scăderea fluxului sangvin cerebral a fost evidenţiată prin laser - flowmetrie. Suplimentarea adenovirus - mediată a adiponectinei s-a soldat cu scăderea dimensiunilor infarctului, prin stimularea sintezei de NO. Adiponectina reprezintă o alternativă moleculară ce ar putea fi valorificată în tratamentul accidentului vascular ischemic (Nishimura M, Izumiya Y et al. Adiponectin prevents cerebral ischemic injury through endothelial nitric oxide synthase - dependent mechanisms. *Circulation* 2008, 117 : 216 - 223).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

THE INFLUENCE OF LEUKOTRIENE RECEPTORS' ANTAGONISTS ON EXPERIMENTAL INDUCED ULCER IN RATS

Magda Cuciureanu[1], **Irina-Draga Căruntu**[2], **M. Kuchar**[3], **M. Nechifor**[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Dental Medicine
1 Department of Pharmacology Department
2 Department of Histopathology Department
3 Research Institute for Pharmacy and Biochemistry (VUFB) Prague

THE INFLUENCE OF LEUKOTRIENE RECEPTOR ANTAGONISTS ON EXPERIMENTAL INDUCED ULCER IN RATS (Abstract): **Aim**: Gastric mucosal cells synthesize a large number of eicosanoids (including leukotrienes) which are distinctively involved in ulcerogenesis. This experimental study investigated the effect of 4 leukotriene receptors' antagonists on indomethacin(IND)-induced ulcer in rats. **Material and methods**: Animals were divided into six groups (of 8 rats each) which received as follows: group I (control) - saline; group II - IND 20 mg/kg p.o.; group III - montelukast sodium 10 mg/kg p.o. and IND 20 mg/kg p.o.; group IV - a quinolinic derivative (19363) 20 µM/kg p.o. and IND 20 mg/kg p.o.; group V - a phenethylamido derivative (20599) 20 µM/kg p.o. and IND 20 mg/kg p.o.; group VI - a resatophenone derivative (19072) 20 µM/kg p.o. and IND 20 mg/kg p.o. Animals were sacrificed eight hours after the last administration. The gastric index (UI), gastric pH and histopathological exam were performed on the removed stomachs. **Results**: UI was 25.8±6.3 in group II, 10.20±2.3 in group III ($p<0.05$), 21.60±2.8 in group IV, 13.40±2.4 in group V ($p<0.05$) and 20.80±3.9 in group VI. pH values were 2.2±0.3 in group II, 3.4±0.9 in group III ($p<0.05$), 2.6±0.8 in group IV, 2.9±0.7 in group V and 2.5±0.6 in group VI. The histopathological exam revealed: *(i)* typical lesions for ulcer in groups II, IV and VI, the most severe being in group II; *(ii)* only superficial non-hemorrhagic erosions in group V; *(iii)* small erosion areas alternating with large zones of normal mucosa in group III. The obtained data demonstrated different degrees of gastro-protective activity for the studied leukotriene receptor antagonists. **Conclusion**: Especially montelukast but also phenethylamido derivative (20599) exhibited a partial gastro-protective effect on IND-induced ulcer in rats. **Key words**: LEUKOTRIENE ANTAGONIST, MONTELUKAST, GASTRIC ULCER

Eicosanoids, one of the most important systems of biologically active endogenous substances in human and animal organism, are a family of lipid mediators that includes prostaglandins (PGs), thromboxanes (TXs), prostacyclins, leukotrienes (LTs), lipoxins and others. Cysteinyl leukotrienes (LTC4, LTD4, and LTE4) and hydroxyl-leukotriene (LTB4) are pivotal inflammatory mediators obtained from arahidonic acid and other fatty acids through 5-lipoxygenase (5-LO) pathway. Cysteinyl leukotrienes (CysLTs) exert function through specific G protein-coupled receptors, Cys-LT receptor type 1 (CysLT1 R) and Cys-LT receptor type 2 (CysLT2 R) (1,2). CysLTs play important roles in the pathophysiology of asthma, allergic rhinitis and other inflammatory conditions. CysLT1 R antagonists (montelukast, zafirlukast, pranlukast) are nowadays used in asthma treatment both in children and adults (3,4).

LTB_4, a potent leukocyte chemoattractant, is known to promote a number of chronic inflammatory diseases. G-protein coupled receptors BLT-1 and BLT-2 and the peroxisome proliferator activator receptor α (PPARα) are currently known as LTB_4 receptors (5).

Gastric mucosal cells synthesize a large number of eicosanoids which are distinctively involved in ulcerogenesis (6). PGs promote wound healing not only via cytoprotective effects but also via stimulatory effects on cell proliferation, angiogenesis and reconstruction of extracellular matrix. LTs have a pro-ulcerogenic role (7).

This study investigates the effects of four LT receptor antagonists: montelukast (a quinoline derivative), a quinoline derivative (19363), a phenethylamido derivate (20559) and a resatophenone derivate (19072) on indomethacin-induced ulcer in Wistar rats.

MATERIAL AND METHODS

Adult, male Wistar rats (n=48), weighing 160-180 g, were housed in groups of four in plexiglas cages (65 x 40 x 30 cm) with the floor covered with sawdust. Animals (obtained from Laboratory Animal Center of Cantacuzino Institute of Research, Bucharest) were maintained in a controlled environment (12-h light/dark cycle with lights on at 07.00, temperature of 20 ± 1°C) before and throughout the experimental period. The rats had free access to food (standard lab rat chow) except 24 hours before the experiment but tap water *ad libitum*. All experiments involving animals were approved by the University's Committee for Bioethics and animal experimentation according to international rules of conduct.

After a habituation period of one week, animals were randomly assigned to six groups of 8 Wistar male adults rats each. Group I was for control and treated with saline, group II received indomethacin 20 mg/kg p.o., group III received MK 10 mg/kg p.o. and indomethacin 20 mg/kg p.o., to group IV was given derivative 19363 20 µM/kg p.o. and indomethacin 20 mg/kg p.o., to group V was administered 20559 derivative 20 µM/kg p.o. and indomethacin 20 mg/kg p.o. and group VI received 19072 20 µM/kg p.o. and indomethacin 20 mg/kg p.o. LT antagonists were administered 3 hours before indomethacin. Indomethacin solution was prepared by solving drug in $NaHCO_3$ 0.84‰ solution at 40°C.

Montelukast was purchased from Merck Sharp Dohme, Bucharest, Romania. The LTs antagonists have been synthesized by prof. PhD. Miroslav Kuchar from The Research Institute for Pharmacy and Biochemistry (VUFB), Prague, Czech Republic (table 1).

Under deep ether anesthesia, animals were sacrificed at 8 hours post-drugs admi-

TABLE I

Inhibitory concentrations 50% (IC_{50}) of tested antagonists for R LTB_4 and R LTD_4. Inhibition values (%) are determined for concentration of 20 µM for each antagonist

Compound a –at 20 µM b- µM	**R LTB_4**		**R LTD_4**		**Molecular weight**
	% inhibition^a	**IC_{50}^{b}**	**% inhibition^a**	**IC_{50}^{b}**	
Quinoline derivative					
19363	*45*	*16.6*	*100*	*98*	387.5
Phenethylamino derivative					
20559	*66*	*6.6*	*41*	*48*	505.6
Resatophenone derivative					
19072	*48*	*11*	*100*	*100*	467.0

nistration. Stomachs were opened along the greater curvature. We evaluated ulcer index, gastric pH and histopathological lesions.

Results were expressed as means ± standard deviation. Statistical analysis was carried out using Student's t-test. Results were considered statistically significant if $p < 0.05$.

For the histopathological exam. the stomachs were fixed in 10% buffered formalin. The areas presenting the most severe macroscopic lesions were sectioned and these fragments were embedded in paraffin blocks. The specimens, standard stained with haematoxylin eosin, were microscopically examined for morphological changes such as congestion, hemorrhage, edema, erosions and ulcers.

The gastric index was determined by Szelenyi and Thiemer method (8) as follows: Gastric index UI= (n lesions type I) + (n lesions II)x2 + (n lesions III)x3. Edema, hyperemia, patches are considered type I lesions, hemorrhagic erosions in submucosa are considered type II lesions and profound ulcerations and invasive lesions are considered type III lesions.

RESULTS

Histopathological exam showed that, compared to control group (fig. 1), indomethacin administration caused severe gastric lesions. Group II presenteds hemorrhagic erosion, inflammatory infiltrate in lamina propria and profound ulceration that extendeds till muscularis mucosae (fig. 2).

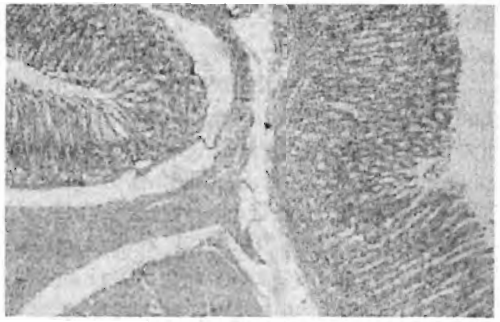


Fig. 1. Group I - Normal mucosa (HE x10)

MK co-administration decreaseeds the severity of indometnacin-induced gastric lesions, small erosion areas alternating with large zones of normal mucoasa (fig. 3). Compared to group II, group III presented statistically significant lower UI (25.8 ± 6.3 in group II versus 10.20 ± 2.3 in gro $p<0.05$) (fig. 5).

Quinolinic derivative 19363 (group IV) didn't modify significantly neither the UI (21.60±2.8) (fig. 4) nor the pH (2.6±0.8) (fig. 5) compared to indomethacin group. The histopathological lesions included ulceration with fibrino-inflammatory exudates, associated with profound fibrinoid necrosis (fig. 6).

As regarding group V (which received the phenethylamido derivative 20559 and indomethacin), the UI decreased statistically significant vs. group II (13.40±2.4 in group V vs. 25.8±6.3 in group II) (fig. 4) without any significant influence on pH (2.96±0.78 in group V vs. 2.2±0.3 in group II) (fig. 5). This group presented histopathologically only superficial non-hemorrhagic erosion (fig. 7)..

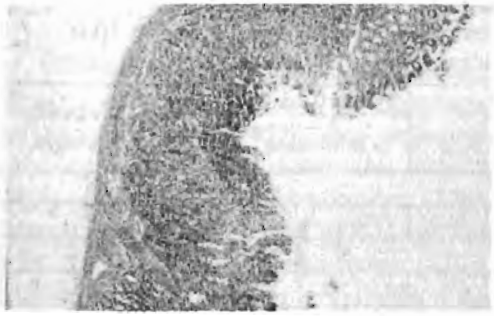


Fig. 2. Group II - Hemorrhagic erosion (HE x4)

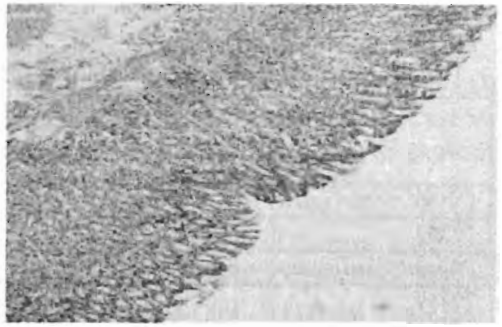


Fig. 3. Group III - Large areas of normal mucosa (HE, x 10)

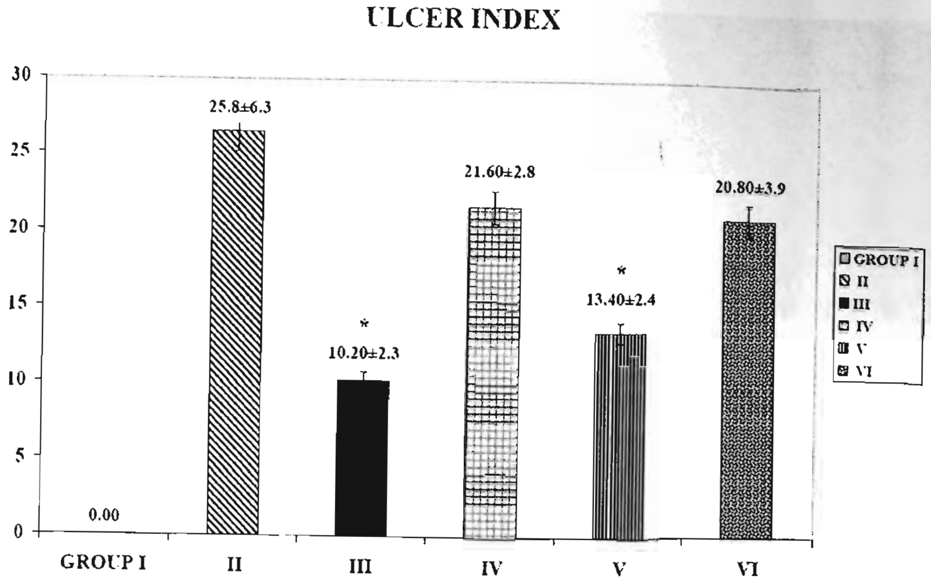


Fig. 4. Ulcer index - * Group III and group V versus group II, * $p<0.05$

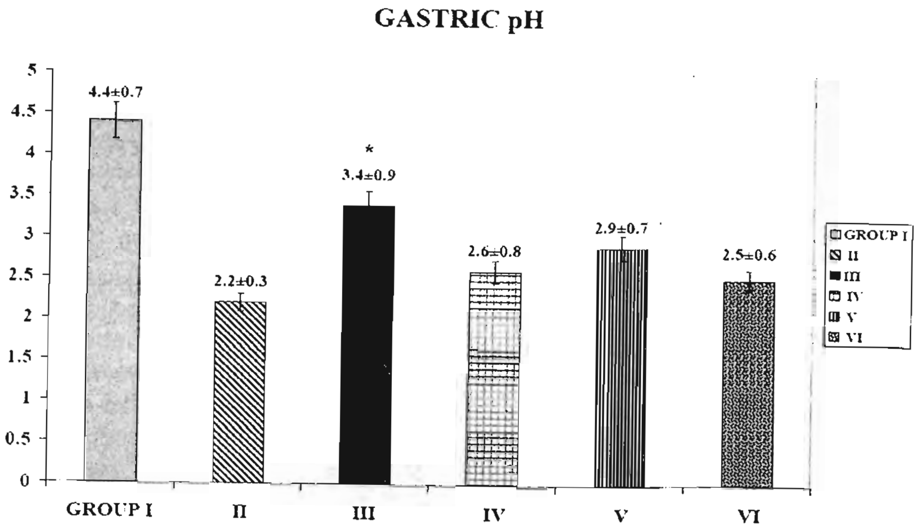


Fig. 5. Gastric pH - * Group III versus group II, * $p<0.05$

In group VI (resatophenone derivative 19072 and indomethacin) we identified profound non-hemorrhagic necrosis including hemorrhagic necrosis (fig. 8). Gastric lesions were less severe than those produced by the nonsteroidal anti-inflammatory drug. The UI (20.80±3.93) (fig. 4) and the gastric pH (2.5±0.63) (fig. 5) were as smaller without existing statistical significance compared to group II.

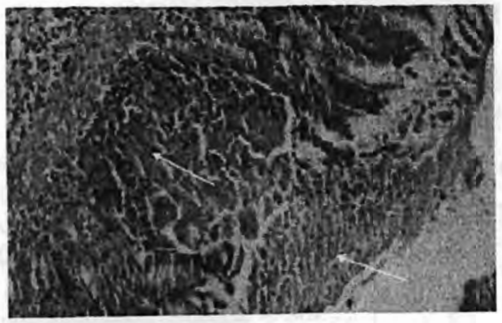


Fig. 6. Group IV - Ulceration with fibrino-inflammatory exudate and profound fibrinoid necrosis (HE x10)

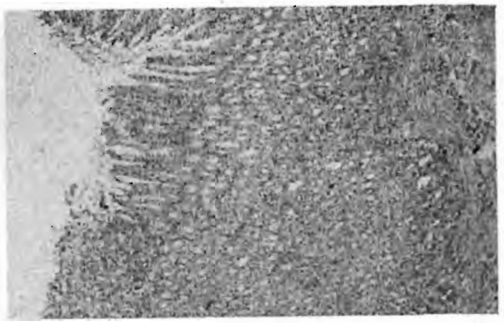


Fig. 7. Group V - Superficial non-hemorrhagic erosion (HE x4)

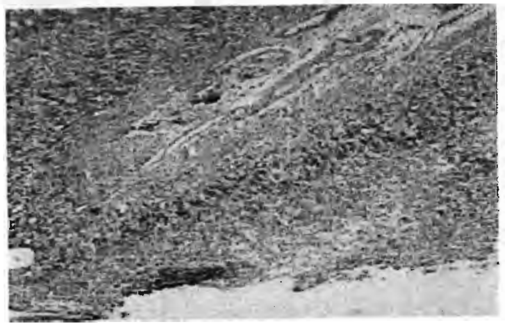


Fig. 8. Group VI - Profound non- hemorrhagic necrosis (HE x10)

DISCUSSIONS

Changes in eicosanoid concentrations and the perturbation of their physiological ratio are involved in digestive pathology including ulcer. While PGs are considered the main cytoprotective and antiulcerogenic eicosanoids, LTs play opposite roles (9).

An intra-arterial infusion of LTC_4 or LTD_4 (0.1-3 μg/kg/min) in rat determines gastric lesions correlated to dose administered. The ulcerogenic effect of LTC_5 and LTD_5 is 5 times less intense than LTC_4 and LTD_4. LTE_4 and LTB_4 perfusion didn't modify significantly the gastric damage induced by ethanol 20% (10,11).

It is known that TxA_2 has an aggressive action on different epithelia including gastric mucosa. Tx antagonists or inhibitors of Tx synthetase haven't influenced the LTC_4 and LTD_4-induced gastric ulcer. This data proves that LTs are ulcerogenic by themselves and not by releasing TxA_2 (12).

The administration of indomethacin 25 mg/kg in rats decreases the level of PGs and increases the production of LTs (5-LO products. Other pathogenic mechanisms for indomethacin in ulcerogenesis also include: gastric hypermotility, increased pepsin secretion and luminal acid, neutrophil infiltration/activation (13,14), generation of superoxide radicals, increased expression of pro-inflammatory cytokines like IL-1 and TNF, upregulation of MMP-9 and microcirculatory disturbances (15).

Our results show that MK and phenethylamido derivative 20559 present partial gastroprotector effects on indomethacin-induced ulcer in rat. Protection degree is higher for MK than for phenethylamido derivative. Our results are in agreement with Gyomber et al. (16) who indicated that the selective (5-LO) inhibitor - L-656224 (50 mg/kg) and the LT antagonists (L-649923 or L-660711) exibited a partial gastroprotector effect in ethanol, indomethacin and aspirin- induced acute gastric ulcer in rat. Similar results were obtained with selective 5-LO inhibitor MK-886 (176) and CysLT leukotriene antagonists such as LY 171883B (187), FPL55712 (2.5-10 mg/kg) (198). Treatment with montelukast (10 mg/kg) administrated by gavage for 4 days shown protection against alendronat-induced gastric damage (20).

Vaananen et al. (21) indicated that two LTD_4 receptor antagonists (MK-571 and ICI-204.219) significantly reduced the permeability changes induced by indomethacin, while two LTB_4 antagonists (SC-41930 and LY-255.283) were without significant effect. In our study, 20559 phenethylamido derivative 20 ěM/kg (that inhibates 41% of CysLT R and 66% of BLT R) determines the best gastric protection among the LT antagonists synthetised by Prof. Kuchar. Our data point that LTB_4 acts as an ulcerogenic agent in this experimental model. In this context, it is important to note that gastro-protective effect of MK is mainly due to antagonizing CysLT effects (on CysLT1 R). We consider that MK's effect is only partially performed through changes in gastric acidity. Still, other mechanisms than antagonism of CysLTs may be involved in MK's mechanism of action. As an example, MK directly inhibits 5-LO and has antioxidant (22) and anti-inflammatory properties (23). As regarding 20559 phenethylamido derivative, its protective activity is attributed to antagonizing both CysLTs and LTB_4 effects.

CONCLUSIONS

LT antagonists present gastro-protective activity in different degrees. In our study, MK and phenethylamido derivative 20559 demonstrated gastro-protective effects. Compound 20559 (antagonist both for BLT R and CysLT1 R) displayed a less protective intensity than MK.

REFERENCES

1. Funk CD. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* 2001; 294(5548): 1871-1875.
2. Brink C, Dahlén SE, Drazen J. et al. International Union of Pharmacology XXXVII. Nomenclature for leukotriene and lipoxin receptors. *Pharmacol Rev* 2003; 55(1): 195-227
3. Bisgaard H. Role of leukotrienes in asthma pathophysiology. *Pediatr Pulmonol* 2000; 30(2): 166-76.
4. Drazen J. Clinical pharmacology of leukotriene receptor antagonists and 5-lipoxygenase inhibitors. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: S233-723.
5. Subbarao K, Jala VR, Mathis S. et al. Role of leukotriene B4 receptors in the development of atherosclerosis: potential mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(2): 369-375.
6. Okazaki M, Shimizu I, Ishikawa M. et al. Gastric mucosal levels of prostaglandins and leukotrienes in patients with gastric ulcer after treatment with rabeprazole in comparison to treatment with ranitidine. *J Med Invest* 2007; 54(1-2): 83-90.
7. Kobayashi K, Arakawa T. Arachidonic acid cascade and gastric mucosal injury, protection, and healing: topics of this decade. J Clin Gastroenterol 1995; 21 Suppl: S12-7.
8. Szelenyi I, Thiemer K. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects. *Arch Toxicol* 1978; 41(1): 99-105.
9. Kapui Z, Boér K, Rózsa I, Blaskó G, Hermecz I. Investigations of indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *Arzneimittelforschung* 1993; 43(7): 767-71.
10. Wallace JL, McKnight GW. Comparison of the damage-promoting effects of eukotrienes derived from eicosapentaenoic acid and arachidonic acid on the rat stomach. *J Exp Med* 1990; 171(5): 1827-32.
11. Wallace JL, McKnight GW, Keenan CM, Byles NI, MacNaughton WK. Effects of leukotrienes on susceptibility of the rat stomach to damage and investigation of the mechanism of action. *Gastroenterol* 1990; 98: 1178-1186.
12. Szabo S. Mechanisms of gastric mucosal injury and protection. *J Clin Gastroenterol* 1991; 13(Suppl 2): S21-34.

13. Filaretova L, Tanaka A, Miyazawa T, Kato S, Takeuchi K. Mechanisms by which endogenous glucocorticoid protects against indomethacin-induced gastric injury in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002 ; 283(5) : G1082-1089.
14. Suzuki K, Araki H, Komoike Y, Takeuchi K. Permissive role of neutrophils in pathogenesis of indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Med Sci Monit* 2000 ; 6(5) : 908-914.
15. Swarnakar S, Ganguly K, Kundu P, Banerjee A, Maity P, Sharma AV. Curcumin regulates expression and activity of matrix metalloproteinases 9 and 2 during prevention and healing of indomethacin-induced gastric ulcer. *J Biol Chem* 2005 ; 280(10) : 9409-9415.
16. Gyömber E, Vattay P, Szabo S, Rainsford KD. Effect of lipoxygenase inhibitors and leukotriene antagonists on acute and chronic gastric haemorrhagic mucosal lesions in ulcer models in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 1996 ; 11(10) : 922-927.
17. Rainsford KD. Inhibition by leukotriene inhibitors, and calcium and platelet-activating factor antagonists, of acute gastric and intestinal damage in arthritic rats and in cholinomimetic-treated mice. *J Pharm Pharmacol* 1999 ; 51(3) : 331-339.
18. Nechifor M, Neughebauer IB, Costuleanu M. et al. The influence of an PGF2x analogue and of some peptidoleukotrienes and platelet activating factor antagonists in experimentally induced gastric ulcer in rats. *Rom J Physiol* 1993 ; 30(3-4) : 155-159.
19. Konturek SJ, Brzozowski T, Drozdowicz D, Beck G. Role of leukotrienes in acute gastric lesions induced by ethanol, taurocholate, aspirin, platelet-activating factor and stress in rats. *Dig Dis Sci* 1988 ; 33(7) : 806-813.
20. Sener G, Kapucu C, Cetinel S, Cikler E, Ayanodlu-Dülger G. Gastroprotective effect of leukotriene receptor blocker montelukast in alendronat-induced lesions of the rat gastric mucosa. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005 ; 72(1) : 1-11.
21. Vaananen PM, Keenan CM, Grisham MB, Wallace JL. Pharmacological investigation of the role of leukotrienes in the pathogenesis of experimental NSAID gastropathy. *Inflammation* 1992 ; 16(3) : 227-240.
22. Ramires R, Caiaffa MF, Tursi A, Haeggström JZ, Macchia L. Novel inhibitory effect on 5-lipoxygenase activity by the anti-asthma drug montelukast. *Biochem Biophys Res Commun* 2004 ; 324(2) : 815-821.
23. Dengiz GO, Odabasoglu F, Halici Z, Cadirci E, Suleyman H. Gastroprotective and antioxidant effects of montelukast on indomethacin-induced gastric ulcer in rats. *J Pharmacol Sci* 2007 ; 105(1) : 94-102.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

ŞTIINŢE FUNDAMENTALE **ARTICOLE ORIGINALE**

NOI EXTRACTE POLIFENOLICE DE COMBATERE A STRESULUI OXIDATIV ÎN DIABETUL EXPERIMENTAL

Manuela Ciocoiu[1], Anca Miron[2], Magda Bădescu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de Fiziopatologie
Facultatea de Farmacie
2 Disciplina de Farmacognozie

NEW POLYPHENOLIC EXTRACTS FOR OXIDATIVE STRESS TREATMENT IN EXPERIMENTAL DIABETES (Abstract) : The paper focuses on the extraction and purification by chromatographic and spectral methods of certain natural polyphenolic extracts from *Aronia melanocarpa* and common elder (*Sambuccus nigra*) fruit, and also on their effects in insulinopriv diabetes mellitus. Material and method : The research was made upon Wistar rats, which were divided into 4 groups : group I- control group ; group II- with polyphenols in a dose of 0.034g/body-kg ; group III- with diabetes mellitus, induced by 55 mg/body-kg of streptozotocyne ; group IV- to whom was administered a solution of polyphenols, 12 weeks, after the onset of diabetes mellitus. Results : Glycosylated hemoglobin values are much higher in the diabetic group and they are significantly lower in the group protected by polyphenols. The serous activity of glutathione-peroxidase and superoxide-dismutase has significantly lower values in the diabetic group as compared to the group protected by polyphenols. The serous concentration of malondialdehyde in the diabetic group undergoing polyphenols treatment is lower as compared to the diabetic group, which means a significant decrease of lipid peroxides in the serum. The results demonstrate the hypoglycemiant, hypolipemiant and antioxidant effects of Aronia melanocarpa and Sambucus nigra extracts in streptosotocyne induced diabetes.
Key words : ARONIA MELANOCARPA, SAMBUCCUS NIGRA, OXIDATIVE STRESS, DIABETES

Pentru a înţelege impactul polifenolilor asupra sănătăţii umane, este esenţial de cunoscut natura polifenolilor principali ingeraţi, originea lor alimentară, cantitatea consumată în diferite diete, biodisponibilitatea lor şi factorii care influenţează această biodisponibilitate. O clasificare a polifenolilor vegetali se bazează pe distincţia dintre substanţele flavonoide (antociani, catechine, flavan 3,4-dioli, flavonoli) şi non-flavonoide (acizii fenolici, stilbeni). Flavonoidele reprezintă o clasă majoră de principii active antioxidante.

Efectele polifenolilor terapeutic relevante pentru sistemele biologice sunt : proprietăţile de scavanger pentru radicalii liberi de oxigen (1), reduc agregabilitatea plachetară (2), scad tensiunea arterială (3), fără o modificare a frecvenţei cardiace, au capacitatea de a interacţiona cu sistemul ce duce la eliberarea NO din endoteliu, au efect hipolipemiant şi antiaterogen (4).

Studiul cuprinde modalităţile de extracţie şi purificare prin metode cromatografice şi spectrale ale unor produşi polifenolici naturali din fructele de *Aronia melanocarpa* şi fructele de soc (*Sambuccus nigra*) care au un conţinut bogat in antociani şi flavone. În experiment s-au utilizat doze terapeutic active, fracţii bine stabilite din DL50 pe un model experimental de diabet zaharat.

MATERIAL ŞI METODĂ

Materialul vegetal izolat şi purificat a fost reprezentat de fructele mature şi uscate provenite de la speciile *Sambucus nigra* (*Caprifoliaceae*, soc) şi *Aronia melanocarpa* (*Rosaceae*). După recoltare, au fost uscate la 30°C în strat subţire şi au fost extrase la rece cu 2 x 250 ml metanol acidulat cu 0,5% HCl conc. Extractele filtrate, reunite au fost concentrate sub presiune redusă. Au fost obţinute astfel extractele S (extract obţinut din fructele de *Sambucus nigra*) şi A (extract obţinut din fructele de *Aronia melanocarpa*). Randamentele de obţinere ale celor două extracte vegetale au fost pentru S de 42,31 g/100 g material vegetal uscat şi pentru A de 69,34 g/100 g material vegetal uscat.

Studiul chimic calitativ al extractelor menţionate s-a realizat în 2 sisteme cromatografice diferite:

A. - Fază staţionară: Kieselgel 60 F254 (5 x 20 cm) (0,25 mm, Merck); - Fază mobilă: butanol – acid acetic – apă (4 : 1 : 5) - Revelare: VIS

B. - Fază staţionară: Kieselgel 60 F254 (5 x 20 cm) (0,25 mm, Merck); - Fază mobilă: acetat de etil – acid formic – acid acetic – apă (100: 11 : 11 : 27); - Revelare: pulverizare cu RSN (reactiv pentru substanţe naturale) / UV.

Analiza cromatografică efectuată a evidenţiat prezenţa, în ambele extracte, a unui spectru larg de compuşi polifenolici, inclusiv antociani (identificabili prin developarea extractelor în sistemul A urmată de examinare în VIS).

Studiul chimic cantitativ al polifenolior totali din extractele S şi A s-a realizat prin metoda Singleton & Rossi. După testări repetate s-a stabilit că doza de polifenoli extraşi din fructele de *Sambucus nigra* şi *Aronia melanocarpa* ce va fi administrată este de 0,034 g/Kg corp la două zile interval, sub formă de soluţie, pe cale enterală (prin gavare).

Cercetarea s-a efectuat pe şobolani albi Wistar, cu greutatea medie de 250-280 g, care au fost grupaţi în 4 loturi de câte 10 şobolani: Lot I – martor (M); Lot II - s-au administrat polifenoli sub formă de soluţie, în doză de 0,034 g/Kg corp, p.o.(prin gavare), la 2 zile interval, timp de 3 + 12 săptămâni (P); Lot III - şobolani cu diabet zaharat realizat prin injectarea de streptozotocin (STZ) 55 mg/Kg corp, în doză unică, intraperitoneal, la 3 săptămâni după începerea experimentului (DZ); Lot IV - şobolani diabetici cărora li s-au administrat polifenoli timp de 12 săptămâni (DZ+P). Hrănirea efectivelor a fost făcută prin administrarea unei raţii zilnice, calculate în funcţie de normele standard ale speciei. Compoziţia dietei a fost următoarea: carbohidraţi 59,12%, proteine crude 21,10%, lipide crude 5,08%, fibre crude 4%, minerale 5,14%; umiditatea fiind de 7,98%. Studiul experimental îndeplineşte condiţiile impuse de ghidul Societăţii Internaţionale de Studiu al Durerii (IASP) şi al Comitetului Consiliului European (86/609/EEC), fiind evaluat şi acceptat de Comisia de etică profesională a Universităţii de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi cu privire la folosirea animalelor de experienţă şi a preparatelor biologice - Nr. 9803/12.09.2006.

Determinarea în dinamică a profilului lipidic şi lipoproteic la loturile M, DZ, P şi DZ+P. Explorarea profilului lipidic a inclus măsurarea prin fotocolorimetrie, în serul obţinut după separare, a concentraţiei colesterolului total (Ch-T), a trigliceridelor (TG), a lipidelor totale (LT), [metoda cu sulfovanilină], a lipoproteinelor cu densitate înaltă (HDL) prin [precipitarea β-lipoproteinelor cu heparină şi ioni divalenţi], a lipoproteinelor cu densitate mică (LDL) [după formula Friedewald] pentru toate animalele incluse în experiment.

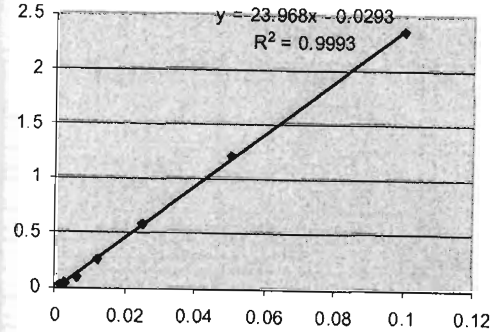


Fig. 1. Curba de etalonare pentru determinarea cantitativă a polifenolilor totali

REZULTATE

Concentraţia în polifenoli totali a extractelor s-a calculat cu ajutorul unei curbe etalon, stabilită în paralel şi în aceleaşi condiţii cu extractele. Absorbanţele tuturor soluţiilor au fost determinate la un spectrofotometru UV-VIS Able Jasco V-550. Valorile obţinute sunt reprezentate grafic în fig. 1.

Rezultatele determinărilor, exprimate în echivalenţi acid galic/100 g extract, sunt redate ca media a 3 determinări ± deviaţia standard (tab. I).

După 24 – 48 ore de la injectarea STZ s-au instalat: poliuria, glucozuria şi hiperglicemia la toate animalele din loturile DZ şi DZ+P şi s-a determinat glicemia în dinamică. Controlul glicemiei la şobolanii cu DZ a relevat creşterea extrem de mare a glucozei sanguine şi anume cu 167% faţă de lotul M, ceea ce demonstrează lezarea celulelor b din insulele Langerhans. La animalele la care DZ a fost realizat pe fondul unei încărcări cu polifenoli (timp de 3 săptămâni înainte de injecţia diabetogenă) şi care au urmat aceeaşi protecţie încă 12 săptămâni, glicemia a înregistrat o creştere doar cu 84,78% faţă de lotul de animale normale (M) şi o scădere cu 73,27% faţă de lotul diabetic (DZ).

TABELUL I

Conţinutul în polifenoli totali al extractelor S şi A

Extract	**Polifenoli totali (echivalenţi acid galic/100 g extract)**
S	7,63 ± 0,12
A	3,67 ± 0,31

În diabetul zaharat, excesul prelungit al glucozei plasmatice determină o glicozilare proporţională cu severitatea şi durata hiperglicemiei afectând numeroase proteine: hemoglobina (Hb), albumina, etc. Valorile hemoglobinei glicozilate sunt mult crescute la lotul diabetic şi diminuă semnificativ la lotul protejat cu polifenoli (tab. II).

Profilul lipidic obţinut la şobolanii Wistar, în urma determinărilor biochimice este redat în tabelul III. Mediile calculate sunt reprezentative pentru seriile considerate, dacă se are în vedere coeficientul de variabilitate (%).

Concentraţia serică a Ch-T a crescut cu 27,13% pentru lotul DZ comparativ cu lotul M, iar pentru lotul DZ+P comparativ cu lotul M a scăzut cu 7,39%. Ca urmare a perturbării metabolismului lipidic la şobolanii diabetici, Ch-T are valori semnificativ crescute ($p < 0{,}001$) faţă de şobolanii din M.

Concentraţia serică a HDL a scăzut cu 48,31% la lotul DZ comparativ cu lotul M, iar pentru lotul DZ+P comparativ cu lotul M a scăzut cu 23,4%. HDL a crescut cu 48,18% la lotul DZ+P faţă de lotul DZ şi cu 8,77% la lotul P, comparativ cu lotul M.

Concentraţia serică a TG a crescut cu 71,11% la lotul DZ comparativ cu lotul M şi cu 3,37% la lotul DZ+P comparativ cu lotul M. Administrarea de polifenoli natu-

TABELUL II

Valorile hemoglobinei totale şi ale hemoglobinei glicozilate la loturile studiate

Lot	**Hb.totală: g/100ml**	**HbA_1c % din Hb**
M	15,22	1,93
P	14,87	1,62
DZ	16,75	36,63
DZ + P	15,64	25,64

TABELUL III

Profilul lipidic pentru şobolanii albi Wistar

Loturi experimentale	Ch-T (mg/dL)	TG (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)
M	74,33±5,61	88,83±7,78	34,17±5,34	24,07±4,69
P	67±2,61	68,33±9,27	31,17±4,88	22,17±4,61
DZ+P	68,83±3,82	91,83±34,89	26,17±3,31	27,83±10,22
DZ	94,5±9,22	152±19,29	17,66±5,66	46,43±7,33
Semnificaţia statistică				
P/M	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05
DZ+P/M	p>0,05	P<0,05	p<0,01	p>0,05
DZ/M	P<0,001	P<0,001	p<0,001	p<0,001
DZ+P/DZ	P<0,001	P<0,001	p<0,001	p<0,01

TABELUL IV

Activitatea serică a GSH-Px la şobolanii Wistar

	M	**P**	**DZ+P**	**DZ**
GSH-Px (µmoliGSSG/min/mL) Media ± DS	2,64±0,22	2,52±0.68	1,56±0,19	1,22±0,21
Eroarea standard	0,06	0,17	0,05	0,06
Coeficient de variaţie, %	7,58	32,0	6,99	8,66
Semnificaţia statistică				
	M+P / M	DZ+P / M	DZ / M	DZ+P / DZ
	p>0,05	p<0,001	p<0,001	p=0,01

TABELUL V

Activitatea serică a SOD la şobolanii Wistar

	M	**P**	**DZ+P**	**DZ**
SOD (U/mL) Media ± DS	3,59±0,37	5,09±0,85	3,45±0,28	2,94±0,28
Eroare standard	0,07	0,15	0,05	0,05
Coeficient de variaţie, %	10,3	16,69	8,11	9,52
Semnificaţia statistică				
	M+P / M	DZ+P / M	DZ / M	DZ+P / DZ
	P=0,001	p>0,05	p<0,01	p<0,01

rali a modificat semnificativ concentraţia serică a Ch-T (a scăzut cu 9,86%) şi a TG (a scăzut cu 23,76%) la lotul P comparativ cu lotul M.

Concentraţia serică a LDL a crescut cu 92,8% la lotul diabetic (DZ), comparativ cu lotul martor (M) şi a scăzut cu 40,06% la lotul DZ+P faţă de lotul DZ. În funcţie de valorile pragului de semnificaţie (p), analiza statistică evidenţiază diferenţe foarte puternic semnificative ($p<0,001$) pentru lotul DZ comparativ cu lotul M şi puternic semnificative ($p<0,01$) pentru lotul DZ+P faţă de lotul DZ.

Ca urmare a intensificării stresului oxidativ şi după mai multe săptămâni de boală, la şobolanii diabetici (DZ), activitatea serică a glutation peroxidazei (GSH-Px) are valori semnificativ scăzute faţă de şobolanii din loturile M şi DZ+P (tab. IV).

Activitatea serică a superoxid-dismutazei (SOD) la şobolanii diabetici are valori semnificativ scăzute faţă de cele înregistrate pentru şobolanii din loturile M şi DZ+P (tab. V). Nu au fost modificări semnificative privind valorile serice ale catalazei (CAT) în loturile DZ şi DZ+P, dar s-au înregistrat creşteri ale CAT la lotul DZ+P faţă de lotul DZ.

TABELUL VI

Concentraţia serică a MDA la şobolanii Wistar

	M	**P**	**DZ+P**	**DZ**
MDA (µmoli/mL) Media ± DS	0,067±0,0017	0,040±0,0078	0,782±0,36	1,57±0,6
Eroarea standard	0,005	0,0030	0,16	0,17
Coeficient de variaţie, %	2,55	17,9	48,6	25,6
Semnificaţia statistică				
	M+P / M	DZ+P / M	DZ / M	DZ+P / DZ
	p<0,01	p<0,001	p<0,001	p>0,05

În funcţie de valorile pragului de semnificaţie (p), analiza statistică a valorilor malonildialdehidei (MDA) evidenţiază diferenţe puternic semnificative ($p<0,01$) pentru lotul P comparativ cu lotul M, respectiv DZ+P faţă de DZ şi foarte puternic semnificative ($p<0,001$) pentru lotul DZ comparativ cu lotul M (tab. VI).

Glutationul redus face parte din sistemul neenzimatic care exprimă apărarea antioxidantă în ser. Ca urmare a intensificării stresului oxidativ la şobolanii diabetici (DZ), GSH are valori semnificativ scăzute (5,24±0,06 ĕmol/ml) faţă de şobolanii din loturile M (7,51±0,02 ĕmol/ml) şi respectiv DZ+P (6,91±0,08 ĕmol/ml). Concentraţia serică de GSH se apropie de valorile lotului martor la lotul diabetic protejat prin administrare de extract polifenolic.

DISCUŢII

Compuşii polifenolici vegetali neutralizează radicalii liberi, inclusiv radicalii liberi de oxigen, inhibă procesele de peroxidare lipidică, regenerează alţi antioxidanţi de tipul vitaminelor E şi C, protejând astfel constituenţii celulari de stresul oxidativ (5). Polifenolii naturali pot induce direct efectul antioxidant (6), în funcţie de tipul de conjugare, dar pot acţiona şi prin mecanism indirect – economizatori de enzime cu seleniu, de vitamine A şi C, chelatori de metale-Cu $^{2+}$, Fe^{2+} (7).

Ca urmare a perturbării metabolismului lipidic, la şobolanii diabetici creşte sinteza de LDL-Col cu rol proaterogen. În diabetul zaharat, creşte nu numai cantitatea de LDL, dar şi de particule LDL alterate (oxidate, glicate) (8). LDL alterate conţin produşi de peroxidare lipidică, puternic citotoxici, cum ar fi aldehidele, care pot fi considerate toxine difuzibile. LDL oxidat şi depozitat în peretele arterial poate elibera aceşti compuşi biologic activi în mod continuu, iritând stratul endotelial vascular şi provocând un spectru de efecte care contribuie la producerea ATS.

Datorită protecţiei polifenolice a şobolanilor din lotul DZ+P, nivelul seric al LDL se menţine în limite normale. Administrarea de polifenoli la şobolanii sănătoşi (P), nu a modificat semnificativ concentraţia LDL-colesterolului. Studii in vivo au demonstrat că administrarea ceaiului verde, a vinului roşu fără alcool, procianidinelor din seminţele de struguri negri, au scăzut colesterolul plasmatic la animalele de laborator cu hipercolesterolemie indusă prin dietă (9). Polifenolii prezintă acţiune antiaterogenică importantă şi prin efectul hipolipemiant, în special prin scăderea sintezei şi secreţiei de LDL şi VLDL (10). În studiul nostru, HDL are valori semnificativ scăzute la şobolanii diabetici faţă de şobolanii din lotul M şi DZ+P.

Creşterea Ch-T la diabetici se poate produce atât prin creşterea sintezei sale (intestinale şi hepatice), cât şi prin diminuarea degradării sale. Se constată că datorită protecţiei polifenolice a şobolanilor din lotul DZ+P, nivelul seric de Ch-T se menţine la valori comparative cu cele ale lotului M (chiar uşor diminuate) şi semnificativ mai scăzute faţă de lotul diabetic neprotejat. Protecţia cu polifenoli a şobolanilor diabetici readuce nivelul TG serice la valori normale. Ca urmare a dislipidemiei la şobolanii diabetici, TG au valori semnificativ crescute faţă de şobolanii din lotul M.

Se constată o marcată creştere a procentului de HbA$_1$c din hemoglobina totală la animalele diabetice, la 12 săptămâni de la inducerea diabetului zaharat. Se poate observa o marcată protecţie a Hb împotriva glicării, realizată prin asocierea de polifenoli la dieta zilnică a şobolanilor diabetici. Este cunoscut faptul că glicarea proteinelor în general şi a celor din membrana eritrocitară în special, induce modificări importante de ordin fizico-chimic ale proteinelor. Polifenolii naturali, prin diminuarea glicării limitează toate aceste efecte secundare din diabetul zaharat.

Datorită protecţiei polifenolice a şobolanilor din lotul DZ+P, activitatea serică a GSH-Px este mai intensă pentru acest lot faţă de lotul DZ. Administrarea de polifenoli la şobolanii martor, nu a modificat semnificativ activitatea serică a GSH-Px. Rezultatele obţinute în aceste studii experimentale demonstrează că, administrarea de polifenoli la şobolanii diabetici, creşte semnificativ activitatea enzimelor antioxidante în ser.

Regenerarea GSH este asigurată de enzimele şuntului pentozo-fosforic, formator de NADPH (Zn-enzime). GSH reacţionează cu o mare varietate de radicali liberi, având funcţie de «scavenger» de radicali liberi şi contribuie la repararea perturbărilor biologice mediate de radicali. În funcţie de valorile pragului de semnificaţie (p), analiza statistică evidenţiază diferenţe foarte puternic semnificative ($p<0,001$) pentru lotul DZ comparativ cu lotul M şi lotul DZ+P faţă de lotul DZ.

Totodată s-a evidenţiat faptul că activitatea serică a SOD este mai intensă la lotul DZ+P comparativ cu lotul DZ neprotejat. Aceleaşi modificări se observă şi în cazul catalazei serice. Trebuie remarcat faptul că activitatea SOD este crescută prin polifenoli nu numai în condiţii de DZ, ci şi la şobolanii martori. Prin urmare, acţiunea de stimulare a apărării antiradicalare este prezentă indiferent de contextul metabolic.

În ceea ce priveşte determinările neenzimatice, ale produşilor de peroxidare lipidică, rezultatele obţinute evidenţiază o reducere importantă a concentraţiei serice a malonildialdehidei la lotul diabetic tratat cu polifenoli comparativ cu lotul diabetic, semnificând o diminuare importantă a peroxizilor lipidici în ser. Rezultatele obţinute demonstrează efectele hipoglicemiante, hipolipemiate şi antioxidante cunoscute (6, 9) ale extractelor polifenolice din Aronia melanocarpa şi pun în evidenţă capacitatea antioxidantă a fructelor de soc (Sambucus nigra) în diabetul experimental indus prin streptozotocină.

Dezvoltarea aterosclerozei se caracterizează prin disfuncţia celulelor endoteliale, proliferarea şi migrarea celulelor musculare netede (CMN) vasculare şi depozitarea crescută de matrice extracelulară. Polifenolii din vinul roşu inhibă proliferarea CMN şi exercită efecte antimigratorii asupra CMN, parţial prin inhibarea reorganizării citoscheletului pentru formarea podocitelor (11). Mai mult, componente ale polifenolilor din vinul roşu inhibă expresia moleculelor de adeziune VCAM-1 (vascular cellular adhesion molecule-1) în celulele endoteliale umane stimulate cu TNFα prin scăderea activităţii factorului nuclear-kB. Aceste efecte benefice ale polifenolilor asupra celulelor endoteliale sugerează că polifenolii ar juca un rol nu doar în menţinerea integrităţii structurale vasculare (12), dar şi în refacerea funcţională a celulelor endoteliale (13).

CONCLUZII

Pe lângă efectele antioxidante, hipolipemiante şi hipoglicemiante demonstrate în diabetul experimental, polifenolii naturali au şi alte proprietăţi biologice care ar putea contribui la efectele cardioprotective, inclusiv capacitatea de a inhiba activitatea plachetară şi tromboza. Prin toate aceste proprietăţi, extractele polifenolice ar putea reprezenta o modalitate nouă de abordare terapeutică în bolile cronice metabolice şi bolile cardiovasculare.

În viitor, trebuie elucidate efectele polifenolilor asupra funcţionalităţii celulelor endoteliale, inclusiv sensibilităţii membranare şi semnalizării intracelulare.

BIBLIOGRAFIE

1. Burns J et al. Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolic content of red wine. *J Agricultural and Food* Chemistry 2000 ; 48 : 220-230.
2. Jeong A, Jeong-Hwa C, Soon-Jae R. Effects of green tea catechin on phospholipase A2 activity and antithrombus in streptozotocin diabetic rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 1999 ; 45 : 337-346.
3. Hiroko N et al. Black and green tea polyphenols attenuate blood pressure increases in stroke - prone spontaneously hypertensive rats. *J Nutr* 2004 ; 134 : 38-42.
4. Tosca LZ, Fernandez ML. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *Recent Advances in Nutritional Sciences* 2005 ; 135 : 2291-2295.
5. Sabu MC, Smitha K, Ramadasan K. Anti-diabetic activity of green tea polyphenols and their role in reducing oxidative stress in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol* 2002 ; 83 : 109-116.
6. Oszmianski J, Wojdylo A. Aronia melanocarpa phenolics and their antioxidant activity. *Eur Food Res Technol* 2005 ; 10 : 1-5.
7. Ozgova S, Hermanek J, Gut I. Different antioxidant effects of polyphenols on lipid peroxidation and hydroxyl radicals in the NADPH-, Fe-ascorbate-, and Fe-microsomal systems. *Biochemical Pharmacology* 2003 ; 66 : 1127-1137.
8. Landrault N et al. Effect of a polyphenols-enriched chardonnay white wine in diabetic rats. *J Agricultural and Food Chemistry* 2003 ; 51 : 310-318.
9. Valcheva-Kuzmanova S, Kuzmanov K, Mihova V, Krasnaliev I, Borisova P. Antihyperlipidemic effect of Aronia melanocarpa fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Foods Hum Nutr* 2007 ; 62 : 19-24.
10. Davalos A et al. Red grape juice polyphenols alter cholesterol homeostasis and increase LDL-receptor activity in human cells in vitro. *J Nutr* 2006 ; 136 : 1766-1773.
11. Katsuya Iijima et al. Red wine polyphenols inhibit vascular smooth muscle cell migration through two distinct signaling pathways. *Basic Science Reports* 2002 ; 105 : 2404-2410.
12. Valcheva-Kuzmanova S et al. Effect of Aronia melanocarpa fruit juice on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2005 ; 52 : 385-392.
13. Cheynier V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr* 2005 ; 81 : 223S-229S.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

INTERPRETAREA EVOLUŢIEI DATELOR STATISTICE CU IMPACT SOCIAL

Simona Irina Damian[1], **Diana Mihai**[1], **R.F. Damian**[2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1 Disciplina de
Universitatea Tehnică "Gh. Asachi" Iaşi
Facultatea de
2 Catedra de

INVESTIGATION OF STATISTIC DATA EVOLUTION WITH SOCIAL IMPACT (Abstract) - Usually statistical analysis of medical and social data consists the final product of the research activity, the mean values, percentages, deviations etc. being an important information to share with other researchers. This paper shows the alternate possibility, using the statistical analysis to discover conclusions not so obvious from the available data. We use this method to analyze couples evolution towards marriage or towards divorce. Age influenced tendency is determined from official referendum and statistical data regarding both married and cohabiting couples. **Key words**: STATISTIC EVOLUTION, MARRIAGE, DIVORCE

De multe ori prelucrarea statistică a datelor medicale şi/sau sociologice este folosită ca produs finit al activităţii de cercetare în domeniu. Desori concluziile lucrărilor ştiinţifice medico-sociale determină procentaje, valori medii, abateri maxime etc. ca rezultate finale, afirmaţii purtătoare de informaţii valoroase în domeniul medical. Această lucrare îşi propune să arate un mod alternativ de utilizare a prelucrărilor statistice şi anume ca material primar pentru obţinerea unor rezultate care nu sunt foarte evidente din datele disponibile.

Metoda prelucrărilor statistice este aplicată în acest caz analizei evoluţiei cuplurilor, pe grupe de vârstă, în Romania.

Se prezintă în tabelul I structura demografică a cuplurilor din România, rezultată în urma recensământului din anul 2002 (1). În acest an, cu ocazia recensământului au fost contorizate cuplurile după starea civilă legală (cupluri soţ/soţie) şi de asemenea starea civilă de fapt (partener/parteneră), cupluri care trăiesc împreună fără a fi legal căsătoriţi. Date similare există şi pentru aceste cupluri dar nu sunt trecute aici din motive de spaţiu.

O reprezentare a acestor date (în figurile 1 şi 2) arată o distribuţie normală în funcţie de vârstă a cuplurilor existente (2) şi anume preferinţa statistică pentru cuplurile apropiate ca vârstă, în care vârsta bărbatului este mai mare decât cea a femeii cu aproximativ 5 ani (aproximaţia provenind din faptul ca vârsta este indicată prin intervale de câte 5 ani).

La nivelul cuplurilor căsătorite există un vârf foarte pronunţat (1019589 căsnicii) pentru perechile în vârstă de peste 60 de ani, în parte datorită îmbătrânirii populaţiei, în parte datorită faptului că acest interval este cel mai întins. Cuplurile caracterizate de diferenţe mari de vârstă între cei doi parteneri ("60 ani şi peste"/"Sub 20 ani") sunt practic inexistente.

TABELUL I
Cuplurile legale (soţ/soţie) în funcţie de grupele de vârstă (în anul 2002)

	2002	Soţie Sub 20 ani	20-24 ani	25-29 ani	30-34 ani	35-39 ani	40-44 ani	45-49 ani	50-54 ani	55-59 ani	60 ani +
Soţ	Sub 20 ani	2914	1003	138	38	12	10	0	0	0	0
	20-24 ani	20332	61672	14456	1619	188	74	24	3	3	3
	25-29 ani	16159	160161	192497	30651	1993	415	125	114	9	1
	30-34 ani	3007	55991	264542	319937	27071	3557	749	245	81	12
	35-39 ani	341	6478	46656	242593	131356	18220	2844	599	131	99
	40-44 ani	76	1557	10814	97781	217023	193246	30008	4268	655	397
	45-49 ani	9	367	2495	19351	67767	268257	230286	29054	3226	1182
	50-54 ani	1	68	537	3457	9668	66677	270374	187819	19073	4646
	55-59 ani	3	22	87	697	1565	8310	65446	210921	104719	23940
	60 ani +	0	15	63	192	599	2708	14926	101849	249881	1019589

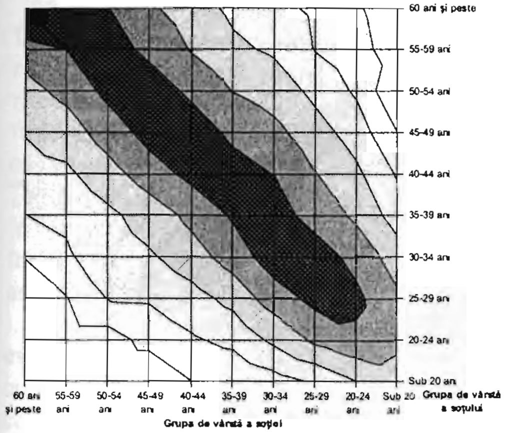


Fig. 1. Distribuţia cuplurilor soţ/soţie în funcţie de vârstă

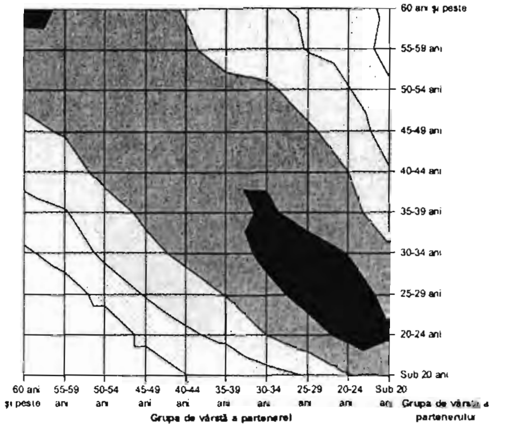


Fig. 2. Distribuţia cuplurilor partener/parteneră în funcţie de vârstă

Distribuţia cuplurilor de parteneri (concubini) este asemănătoare, numărul lor fiind redus, un maxim mai pronunţat existând în zona 20-39 ani la bărbaţi şi 15-35 ani la femei, reprezentând intr-un fel „reticenţa" cuplurilor tinere de a-si legaliza o legătură stabilă.

Se reprezintă în figura 3 raportul între numărul de cupluri de fapt (parteneri) şi cele legale (soţi). Acest raport arată preferinţa cuplurilor de o anumită structură a vârstelor de a aprecia concubinajul ca stare socială faţa de căsătorie. Şi în acest caz rezultatele sunt cele aşteptate, cuplurile care

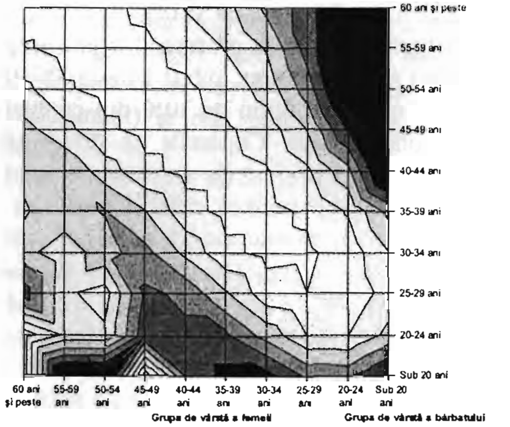


Fig. 3. Raportul între cuplurile de fapt şi cele legale în funcţie de vârstă

TABELUL II

Căsătorii în anul 2003 în funcţie de grupele de vârstă

2003		Soţie									
		Sub 20 ani	20-24 ani	25-29 ani	30-34 ani	35-39 ani	40-44 ani	45-49 ani	50-54 ani	55-59 ani	60 ani +
Soţ	Sub 20 ani	946	465	69	21	8	4	1	1	0	0
	20-24 ani	10835	20370	4683	473	101	22	5	4	2	0
	25-29 ani	7204	24759	17718	2678	507	95	27	7	2	0
	30-34 ani	1216	5623	8174	4615	1216	218	77	10	2	1
	35-39 ani	166	1179	2596	2770	1473	351	116	23	11	2
	40-44 ani	61	293	709	1196	1136	684	286	89	11	2
	45-49 ani	13	145	316	590	657	723	637	212	48	10
	50-54 ani	14	52	120	236	285	396	670	389	103	25
	55-59 ani	2	16	41	64	79	142	286	330	131	49
	60 ani +	3	11	34	42	61	110	226	377	317	678

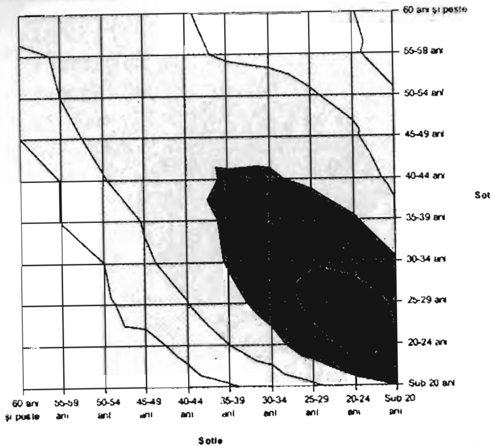


Fig. 4. Distribuţia căsătoriilor în 2003 în funcţie de vârstă

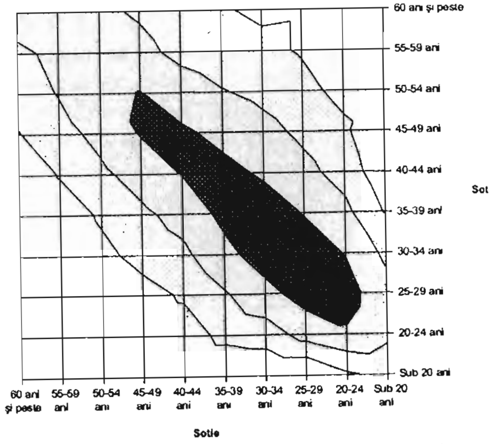


Fig. 5. Distribuţia divorţurilor în 2003 în funcţie de vârstă

se înscriu în diferenţa de vârstă de 1-10 ani între bărbat şi femeie preferând legalizarea situaţiei (raport minim, sub 0,1 peste 25-30 de ani) deci mai puţin de 10% din cupluri aleg concubinajul. Cuplurile cu diferenţă mare de vârstă preferă de asemenea în mod clar (raport supraunitar) cuplurile de concubini întâlnite în majoritatea cazurilor. Un minim local neaşteptat se întâlneşte la cuplurile „bărbat 25-29 ani"/„femeie 50-54 ani" situaţie care nu corespunde cu tendinţa grupelor de vârstă apropiate. Acest lucru ar putea fi atribuit numărului redus de cupluri aflate în această situaţie, deci a erorilor relativ mari generate.

Mişcarea naturală a populaţiei poate fi analizată în cadrul aceloraşi grupe de vârstă. Analiza evoluţiei cuplurilor poate fi estimată conform datelor referitoare la căsătoriile şi divorţurile din anul 2003, date cuprinse în Anuarul Statistic al României din anul 2004 (3) - sursa: Institutul Naţional de Statistică al României). Din nou din motive de spaţiu datele corespunzătoare divorţurilor nu sunt prezentate aici dar sunt public accesibile (http://www.insse.ro)

Reprezentarea grafică din figurile 4 şi 5 arată că şi căsătoriile şi divorţurile respectă tendinţa prezentă la cuplurile existente: diferenţă între 1 şi 10 ani între soţ şi soţie.

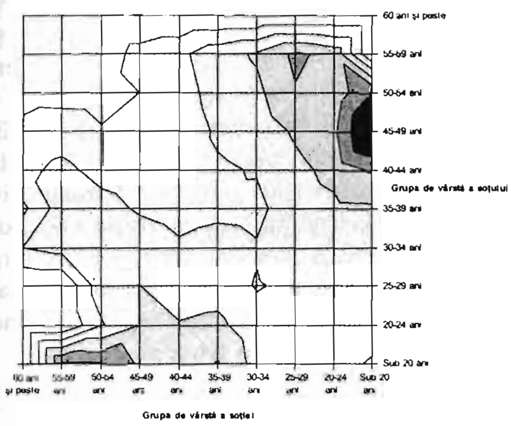


Fig. 6. Distribuţia raportului divorţuri(2003)/ cupluri legale(2002)

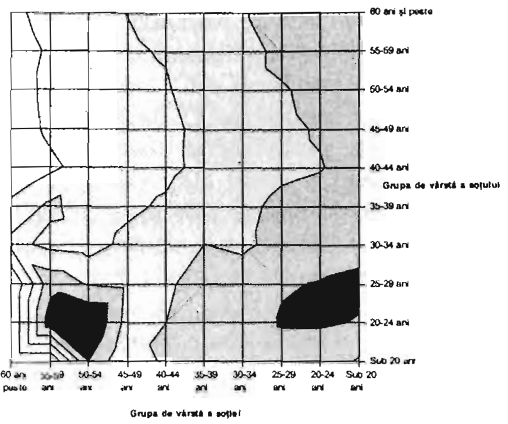


Fig. 7. Distribuţia raportului căsătorii(2003)/ cupluri de fapt(2002)

Din cauza structurii demografice a cuplurilor (tab. I) cele mai multe divorţuri (valorile absolute) respectă aceeaşi distribuţie în funcţie de vârstă. Maximul incidenţei căsătoriilor se întâlneşte în grupa de vârstă „bărbat 25-29 ani"/„femeie 20-24 ani" iar în cazul divorţului incidenţa maximă s-a întâlnit în grupa de vârstă „bărbat 30-34 ani"/„femeie 25-29 ani" în 2003.

În figura 6 se reprezintă tendinţa de evoluţie spre divorţ a cuplurilor legale calculată ca raport între numărul de divorţuri consemnate în 2003 şi număr de cupluri existente în 2002, în aceeaşi grupă de vârstă, valoarea obţinută fiind caracteristică pentru stabilitatea cuplurilor existente.

Se observă de asemenea o probabilitate ridicată de apariţie a divorţului în cuplurile cu diferenţă mare de vârstă între soţi. Un alt fapt important este că probabilitatea divorţului scade pe măsura înaintării în vârstă a cuplurilor, posibil datorită apariţiei obişnuinţei sau datorită apariţiei copiilor. Spre 50-60 ani incidenţa divorţurilor scade de până la 10 ori.

În figura 7 este reprezentat raportul între numărul de căsătorii consemnate în 2003 şi numărul de cupluri de fapt existente în 2002, în aceeaşi grupă de vârstă. În condiţiile generalizării „căsătoriei de probă" aceste valori pot estima probabilitatea evoluţiei concubinajului spre căsătoria legală.

Valorile obţinute sugerează o „viteză" mai mare de transformare a cuplurilor de fapt în căsătorii în cazul bărbaţilor tineri (20-25 de ani) cu un maxim în cazul cuplurilor realizate cu femei în vârstă de 50-54 de ani. Într-o măsură mai mică, dar tot cu „viteză" crescută, se oficializează şi cuplurile bărbaţi în vârstă cu femei foarte tinere (până în 24 de ani). Variaţia din figura 7. sugerează o evoluţie mai lentă a cuplurilor de fapt spre căsnicii în cazul partenerilor de vârste apropiate (cu excepţia celor foarte tineri: 20-29 ani).

Un rezultant interesant este de asemenea faptul că evoluţia spre căsătorie depinde preponderent de vârsta femeii (ca factor determinant) şi mai puţin de cea a bărbatului.

CONCLUZII

Uneori rezultatele numerice sunt evidente şi aşteptate, alteori atrag atenţia asupra unor tendinţe sociale care scapă la prima vedere. Distribuţia cuplurilor existente în funcţie de vârstă respectă configuraţia tradiţională (2) (vârsta soţului cu 4-5 ani mai mare decât a soţiei în căsătorie, sau a bărbatului cu 1-10 ani mai mare decât a femeii în cuplurile de parteneri).

În schimb analiza dinamicii cuplurilor, ca evoluţie spre divorţ sau căsătorie, arată nişte lucruri neaşteptate. Cu toate că în valori absolute căsătoriile şi divorţurile respectă aceleaşi structuri din punctul de vedere al vârstei partenerilor implicaţi, tendinţele procentuale, deci într-o oarecare măsură viteza de evoluţie, sunt mai mari la cuplurile cu diferenţă mare de vârstă. Dacă se cunoştea instabilitatea cuplurilor căsătorite, se pare că şi reversul este adevărat, şi anume cuplurile echivalente de parteneri evoluează mai repede spre căsătorie.

O altă observaţie interesantă este că în timp ce divorţul poate fi atribuit în egală măsură partenerilor (simetrie aproximativ diagonală), tendinţa spre căsătorie este proprie în general femeii: raportul din figura 7 depinde în general de vârsta femeii şi mai puţin de cea a bărbatului (excepţia fiind cazul bărbaţilor tineri până în 25 de ani).

BIBLIOGRAFIE

1 *** Institutul Naţional de Statistică al României. *Recensământul Populaţiei şi al Locuinţelor*, 2002.
2 Bestard-Camps J. Marriage. In: Smelser NJ, Baltes PB editors. *International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences*. Berlin: Elsevier, 2006, 9258-9261.
3 *** Institutul Naţional de Statistică al României. *Anuarul Statistic al României* 2004.

NOUTĂŢI

ACŢIUNEA ANTINOCICEPTIVĂ A ULEIURILOR VOLATILE IZOLATE DIN GENOTIPURI ALE SPECIEI *HYPTIS PECTINATA* L. POIT. (*LAMIACEAE*)

Hyptis pectinata L. Poit. este o planta aromatica raspândita în nord-estul Braziliei unde este cunoscuta şi sub denumirile de *sambacaita* sau *canudinho*. În medicina tradiţionala, frunzele plantei, sub forma de infuzie sau decoct, sunt utilizate ca antiinflamatoare şi analgezice. Arrigoni-Blank et al. au studiat acţiunea antiinflamatoare a uleiurilor volatile izolate din şase genotipuri ale speciei. Uleiurile volatile au fost administrate subcutan animalelor de experienţa în doze de 100, 200 şi 400 mg/kg. Pentru evaluarea acţiunii analgezice s-au utilizat testul contracţiilor abdominale induse de acidul acetic şi testul placii fierbinţi. Toate uleiurile volatile, bogate în sescviterpene (beta-cariofilen, cariofilen-oxid, pectinona), au prezentat efecte antinociceptive în ambele modele experimentale ceea ce dovedeşte faptul ca uleiurile volatile din *Hyptis pectinata* acţioneaza ca analgezice atât periferic (reduc contracţiile abdominale), cât şi central (întârzie apariţia reacţiei la caldura). Interesant este şi faptul ca acţiunea antinociceptiva a uleiurilor volatile nu este datorata constituenţilor majoritari ci fitocomplexului constituit atât din compuşi activi, cât şi compuşi inactivi care însa influenţeaza absorbţia, farmacocinetica şi biodisponibilitatea compuşilor activi (Arrigoni-Blank MF, Antoniolli AR, Caetano LC, Campos DA, Blank AF, Alves PB. Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (*Lamiaceae*) genotypes. *Phytomedicine* 2008; 15: 334-339).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi – 2008 – vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

NOI ORIENTĂRI PRIVIND BOLILE PROFESIONALE ÎN CONCORDANŢĂ CU PROGRAMUL EUROPEAN

Elena Teslariu, Brânduşa Constantin, Cornelia Mihalache
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr. T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
Disciplina Medicina Muncii

NEW TRENDS FOR THE OCCUPATIONAL HEALTH IN ACCORDANCE WITH THE EUROPEAN PROGRAM (Abstract): The development of the European schedule of the occupational diseases has the aim to harmonize the data from all Member States. For this purpose European Agency for Safety and Health at work recommends for all the Member States to progressively make their statistics concerning occupational diseases, compatible with European schedule, in order to evaluate the incidence of the recognised occupational diseases and to define quantified criteria for the recognising each occupational disease. The presented data allude to the incidence of the recognised occupational diseases for the first time in 2001, supposed reference year, and to the deaths due to occupational diseases. The used indicators were the number and incidence rate of occupational diseases by sex, age, economic activity, occupation and causative agents, workplaces, exposed professions. Key words: OCCUPATIONAL DISEASES, INCIDENCE, DEATHS, LEGISLATION

Datele statistice au estimat că în anul 2004, la nivel mondial, peste 2 milioane de oameni sufereau de boli cauzate de expunerea curentă sau anterioară la locul de muncă, numai în anul 2004 fiind semnalate peste 23000 de cazuri noi. De asemenea în fiecare an apoximativ 6000 de persoane mor datorită cancerului cauzat de expunerea anterioară la locul de muncă (1).

Stresul, factorii psihosociali, dezvoltarea de noi tehnologii digitale şi robotica la locul de muncă sunt acum preocupări majore, alăturându-se problemelor tradiţionale de expunere la factori fizici, chimici sau biologici. Aceste modificări ale proceselor standard de muncă impun necesitatea unor modificări radicale în prevenţia sănătăţii ocupaţionale. Sunt necesare programe care să identifice cauzele bolilor profesionale şi prejudiciile asupra muncitorilor şi să dezvolte strategii pentru a le preveni. În acest scop este necesară: identificarea tuturor tipurilor de activităţi care pot cauza probleme de sănătate; urmărirea numărului de muncitori care se îmbolnăvesc sau care sunt afectaţi la locul de muncă; găsirea de soluţii practice şi propunerea de recomandări pentru a îmbunătăţi securitatea la locul de muncă (2).

MATERIAL ŞI METODĂ

Pentru armonizarea datelor privind bolile profesionale (BP) la nivel european a fost iniţiat un program de statistică a bolilor profesionale (European Occupational Diseases Statistics - EODS) pe baza unei metodologii dezvoltate în anul 1997 (3). Dezvoltarea unui astfel de program european are 2 obiective majore: (a) să îmbunătăţească coerenţa şi comparabilitatea datelor privind BP în toate statele membre; (b) să îmbunătăţească prevenţia (în acest scop statele membre trebuie să-şi definească obiectivele privind reducerea ratei incidenţei BP şi asigurarea asistenţei muncitorilor) (3,4).

Datele pentru acest studiu au fost furnizate de 12 State Membre ale Uniunii Europene (EU-12) : Belgia, Danemarca, Spania, Irlanda, Italia, Luxemburg, Olanda, Austria, Portugalia, Finlanda, Suedia şi Marea Britanie. Pentru numărul deceselor cauzate de BP, numai 6 state membre (EU-6) au furnizat date. Au fost recunoscute, de către toate cele 12 state membre, 68 de BP şi există o listă opţională care cuprinde 41 de BP recunoscute numai de unele state membre.

Datele se referă la incidenţa BP recunoscute pentru prima dată în anul de referinţă 2001 şi la decesele cauzate de BP. Indicatorii folosiţi sunt numărul cazurilor de BP şi rata incidenţei (calculată la o sută de mii de angajaţi) în funcţie de sex, vârstă, activitate economică, ocupaţii, agenţi cauzativi.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Situaţia statistică a bolilor profesionale în Uniunea Europeană

În acord cu Programul European referitor la bolile profesionale, primele date statistice recunoscute în Uniunea Europeană s-au realizat pentru anul 2001, considerat an de referinţă. Practicile de recunoaştere şi acordurile de securitate pentru BP diferă între statele membre şi de aceea datele statistice se referă numai la cele 68 de BP care sunt recunoscute de toate sistemele naţionale. Pentru aceste categorii de boli s-au înregistrat 31945 cazuri noi de BP recunoscute de autorităţile naţionale din cele 12 state membre, care au pus la dispoziţie date pentru anul de referinţă 2001.

Primele zece, dintre cele mai comune boli profesionale, în cele 12 sate membre sunt: 1 - Tenosinovitele (5379 cazuri); 2 - Epicondilita cotului (4585 cazuri); 3 - Dermatite de contact (4457 cazuri); 4 - Hipoacuzie şi surditate profesională (4068 cazuri); 5 - Sindromul Raynaud (3120 cazuri); 6 - Sindromul de tunel carpian (2483 cazuri); 7- Mesoteliomul pleural (1168 cazuri); 8 - Astmul bronşic profesional (1075 cazuri); 9 - Asbestoza (738 cazuri); 10 - Pneumoconioza la cărbune (547 cazuri).

Majoritatea cazurilor de BP au fost: 1 - BP cauzate de agenţi fizici (20937 cazuri); 2 - BP cauzate de noxe toxice (5535 cazuri); 3 - Afecţiuni cutanate la substanţe iritante şi alergizante (4357 cazuri) (3).

Rata incidenţei BP (la o sută de mii de persoane angajate) a fost de aprox. 40 de ori mai mare în rândul muncitorilor din industrie şi din comerţ comparativ cu funcţionarii. Dintre activităţile economice rata incidenţei a fost mai mare în industria minieră, industria prelucrătoare şi în construcţii, predominând la sexul masculin (tab. I) (3). Dintre agenţii care cauzează BP, cea mai mare incidenţă o au factorii biomecanici, factorii fizici şi factorii industriali.

Unele BP dezvoltate de-a lungul unei perioade mai mari de timp (de ex. cancerul), raportate în 2001, sunt rezultatul expunerii timp de 10-40 de ani în urmă. De aceea rata incidenţei pentru astfel de categorii este calculată bianual sau nu a fost încă calculată pentru toate cazurile (de ex. pentru activitatea minieră sau pentru grupa de vârsta > 64 ani) (5).

Rata incidenţei nu a putut fi calculată nici pentru grupele de agenţi cauzatori de BP, deoarece nu există încă informaţii disponibile despre numărul de muncitori expuşi curent, în toate ţările din Uniunea Europeană. Distribuţia cazurilor în funcţie de diagnostic este prezentată în tabelul II (3). Datele sunt relative deoarece nu există informaţii curente privind numărul de expuşi.

Detalii despre cele mai comune BP semnalate în Uniunea Europeană

Tenosinovitele mâinii sau articulaţiei pumnului: principalele afecţiuni prin solicitare

TABELUL I

Numărul şi rata incidenţei BP în funcţie de sex, vârstă, activitate economică, ocupaţii şi agenţi cauzativi

	EU 12		
	Persoane angajate (1000)	Număr cazuri BP	Rata incidenţei
Total	**86 342**	**31 945**	**37.0**
Bărbaţi	49 649	23 743	47.8
Femei	36 694	8 061	22.0
15-17 ani	1 447	120	8.3
18-24 ani	9 730	2 212	22.7
25-34 ani	23 812	5 323	22.4
35-44 ani	23 771	7 387	31.1
45-54 ani	18 759	7 354	39.2
55-64 ani	7 969	5 511	69.2
peste 64 ani		3 506	
Activitate economica			
Agricultura	2 973	1 035	34.8
Minerit	293	5 066	1 726.8
Industrie	17 311	12 242	70.7
Electricitate, gaz, apă (servicii)	657	216	32.9
Construcţii	6 543	3 937	60.2
Servicii hoteliere	3 587	610	17.0
Transport şi comunicaţii	5 606	564	10.1
Intermedieri financiare	3 158	94	3.0
Consultanţă si afaceri	7 779	1 441	18.5
Administraţie publică şi apărare	6 532	693	10.6
Sistem educaţional	6 084	179	2.9
Sănătate şi activitate socială	8 450	1 087	12.9
Alte activitaţi	3 591	692	19.3
Ocupaţii			
Activitate legislativă	5 946	163	2.7
Specialişti cu înaltă calificare	10 891	639	5.9
Tehnicieni	12 108	684	5.6
Funcţionari	12 34	657	5.5
Servicii (comerţ şi marketing)	13 468	1 752	13.0
Specialişti în agricultură	2 095	737	35.2
Muncitori (industrie)	11 813	12 555	106.3
Maşinişti, asamblori (industrie)	7 724	7 567	98.0
Ocupaţii elementare	9 416	6 998	74.3
Agenţi cauzativi			
Compuşi anorganici		421	
Compuşi organici		320	
Alte chimicale		514	
Factori fizici		7 206	
Bacterii		194	
Viruşi		166	
Fungii		81	
Plante		385	
Animale		232	
Alţi agenţi biologici		69	
Factori biomecanici		12 485	

TABELUL II

Numărul de boli ocupaţionale în funcţie de diagnostic

Diagnostic	EU-12 Numar
Total	**31 945**
Infecţioase	**436**
Tuberculoză	83
Brucelază	149
Hepatite A	40
Hepatite B	10
Hepatite C	146
Alte infecţii	8
Boli maligne	**1 499**
Cancer nazal	28
Cancer sinusal	16
Cancer pulmonar	208
Mesoteliomul	1 168
Cancer de sânge	56
Leucemie	11
Altele	12
Boli neurologice	**2 542**
Sindrom de tunel carpian	2 483
Encefalopatie toxică	52
Altele	7
Boli ale aparatului auditiv	**4 077**
Pierderea auzului indusă de zgomot	4 077
Boli cutanate	**4 569**
Dermatite de contact	4 457
Urticarie de contact	110
Boli respiratorii	**4 507**
Rinite alergice	248
Bronşite cronice	497
Astm bronşic pulmonar	1 075
Pnumoconiza la mineri	547
Asbestoza	738
Silicoza	485
Alte pneumoconioze	76
Alveolite alergice	189
Bronşite acute (factori chimici)	42
Sindrom cronic iritativ al căilor aeriene respiratorii superioare	85
Fibroză pulmonară	15
Placă pleurală	186
Îngroşare pleurală difuză	291
Altele	20
Boli musculoskeletale	**11 169**
Artroze ale cotului	12
Leziuni ale meniscului	334
Tenosinovitele	5 379
Bursite ale cotului	183
Bursite ale genunchiului	422
Epicondilita cotului	4 585
Artroze de efort	254
Alte boli	3 145
Sindrom Raynaud's	3 120
Colici, simptome diferite	25

osteomusculară, aşa cum reiese din raportarea EODS (5379 cazuri) cunosc o incidenţă crescută în industrie unde multiplele profesiuni (şlefuire, polizare, decorare, ambalare etc) expun la munca în forţă, pumn cu antebraţ în pronaţie, mişcări repetitive ale degetelor cu presiune la baza palmei şi mâinii, posturi vicioase alături de solicitările biomecanice şi vibraţii.

Epicondilitele cotului: considerate a 2-a dintre primele 10 BP, recunoscute numai de 7 state membre, cunoaşte o incidenţă de 4585 de cazuri (4157 cazuri de epicondilită laterală respectiv 428 cazuri de epicondilită medială). Profesiunile expuse provin din industrie, minerit şi construcţii.

Sindromul de tunel carpian: Sindromul de tunel carpian este considerat al 6-lea dintre primele 10 BP recunoscute de cele 12 State Membre ale Uniunii Europene, în 2001 semnalându-se 2483 de cazuri. Cea mai mare rată a incidenţei a fost în sectorul industrial, la muncitorii expuşi prin natura operaţiei tehnologice la vibraţii şi solicitări biomecanice şi repetitive cu intensificarea extinsă a articulaţiei pumnilor.

Deficitul acustic indus de zgomot: Pierderea auzului este considerată a 4-a dintre primele 10 BP recunoscute de cele 12 state membre, în anul 2001 semnalându-se 4068 de cazuri. Rata incidenţei a fost de 4,7 la o sută de mii de muncitori. În sectorul industrial s-au semnalat cele mai multe cazuri (51%), urmat de construcţii (17%).

Astmul bronşic profesional: 1075 de cazuri de astm au fost semnalate de statele membre în anul 2001. Rata cea mai mare s-a înregistrat în agricultură şi în industrie, fiind de 10 ori mai mare decât în sectorul administrativ sau al educaţiei. Cea mai mare incidenţă s-a semnalat la muncitorii din industrie, la lucrătorii din comerţ şi la cei din agricultură. Au fost raportaţi 107 agenţi cauzatori, cei mai specifici fiind: pulberile anorganice (12%), pulberile de făină (10%), izocianaţii (4%), pulberile animale (4%) şi pulberile lemnoase (3%).

Dermatitele: Au fost semnalate 4457 cazuri de dermatite de contact alergice sau iritative. Rata incidenţei a fost cea mai mare în domeniul industrial, construcţii şi în serviciile social comunitare, iar dintre ocupaţii incidenţa cea mai mare a fost semnalată la muncitorii din industrie şi comerţ.

Bolile infecţioase: Au fost recunoscute 436 de cazuri, cele mai numeroase fiind: bruceloza (149 cazuri), hepatita C (146), tuberculoza (83), hepatita A (40) şi hepatita B (10). Aproape 46% din cazurile de bruceloză s-au înregistrat iîn industrie şi 27% în agricultură. În domeniul sănătăţii şi în domeniul administraţiei publice şi social s-au înregistrat majoritatea cazurilor de hepatită C (97%), hepatită A (88%), tuberculoză (88%) şi hepatită B (60%).

Bolile maligne: Cele 1499 cazuri de cancer înregistrate în Uniunea Europeană în anul 2001 cuprind 7 tipuri de boli maligne diferite: mesoteliomul pleural (1168) şi neopulmonar (208) prin expunere la azbest, hemopatii maligne (67) prin expunere la amine aromatice şi solvenţi organici, cancer nazal şi sinusal (44) prin expunere la pulberi, cancer la nivelul laringelui (7), cancer de piele (5). Activităţile economice în care s-au inregistrat cel mai mare număr de boli maligne au fost: industria (38%) şi construcţiile (37%).

Decese datorate bolilor profesionale

Numai 6 state membre (EU-6) au raportat 1362 de decese ca urmare a expunerii profesionale. Din datele statistice privind numărul incidentelor fatale datorate bolilor ocupaţionale în acord cu Programul European pentru boli profesionale reţinem: pneumoconioza la mineri (595 cazuri), mesoteliomul (328 cazuri), cancerul pulmonar datorat asbestului (127 cazuri), azbestoza (101 cazuri) şi silicoza (50 cazuri). Decesele datorate BP sunt în general subdiagnosticate deoarece este dificil să se evalueze cauzele legate de muncă, dacă evaluarea nu a fost deja facută când persoana era încă în viaţă (de reţinut în acest sens cele 595 de decese raportate prin BPOC sau emfizem la minerii din subteran) (3,6).

CONCLUZII

Elaborarea la nivel european a listei de BP recunoscute reflectă nu numai apariţia acestor boli, cât şi modul în care conceptul de BP a fost integrat în sistemul de securitate socială. Această integrare determină (legal şi financiar) motivaţia pacientului, medicului şi angajatorului să transmită cazurile şi motivaţia autorităţilor de securitate socială pentru a le include în sistemul normal de securitate socială sau pentru a le defini ca boli ocupaţionale.

Statisticile naţionale arată că BP nu sunt raportate corect în comparaţie cu numărul de incidente traumatice sau fatale raportate. BP spre deosebire de bolile legate de profesie sunt dificil de recunoscut, fiind considerate un "iceberg" al sănătăţii şi securităţii muncii. Sub acest "iceberg" sunt ascunse un număr mare de BP care nu sunt recunoscute sau nu sunt raportate, numărul cazurilor raportate pentru urmărirea statistică find numai vârful "iceberg-ului". De exemplu, cuantificarea cancerelor şi a altor boli care se dezvoltă în timp, ca urmare a expunerii la locul de muncă, este dificilă deoarece nu sunt recunoscute şi raportate adecvat. Comisia Europeană recomandă statelor membre să stabilească criterii pentru recunoaşterea fiecărei boli profesionale.

Stabilirea unor date comparabile la nivel european reprezintă un element important al strategiei Comisiei Europene privind Sănătatea şi Securitatea Muncii. Cunoaşterea numărului şi frecvenţa bolilor profesionale în diferite sectoare ocupaţionale constituie o bază importantă pentru promovarea sănătăţii şi securităţii la locul de muncă.

BIBLIOGRAFIE

1. Boedeker W, Kreis J. Work related health monitoring in Europe from a public health perspective. *Eur J Public Health* 2003 ; 13 (3 suppl) : 91-94.
2. Kramers PG. The ECHI project : health indicators for European Community. *Eur J Public Health* 2003 ; 13 (3 Suppl) : 101-106.
3. Karjalainen A, Niederlaender E. Occupational diseases in Europe in 2001. *Statistics in Focus* 2004 ; 15 : 2-7.
4. Aromaa A Health observation and health reporting in Europe. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1998 ; 46 (6) : 181-190.
5. Bray F, Guerra Yi M, Parkin DM. The comprehensive cancer monitoring programme in Europe. *Eur J Public Health* 2003 ; 13 (3 Suppl) : 61-66.
6. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol* 2005 ; 16 (3) : 481-488.

NOUTĂŢI

REZULTATELE INTERVENŢIEI MULTIFACTORIALE ASUPRA MORTALITĂŢII ÎN DIABETUL ZAHARAT TIP II

Intensificarea intervenţiei multifactoriale (control glicemic adecvat, utilizarea tratamentului combinat cu inhibitori ai enzimei de conversie a angiotensinei, aspirină şi hipolipemiante) este recunoscută pentru efectul de reducere a morbidităţii, în special a accidentelor cardiovasculare non-fatale şi a microalbuminuriei, la pacienţii cu diabet zaharat tip II. Studiul Steno-2 a verificat, în primul rând, efectele acestui control asupra mortalităţii de toate cauzele şi a celei cardiovasculare. Au fost randomizaţi 160 pacienţi cu diabet zaharat tip II şi microalbuminurie persistentă, care au primit tratament convenţional sau multifactorial intensiv, pe o perioadă medie de 7,8 ani şi ulterior au fost urmăriţi pe o perioadă de încă 5,5 ani, obiectivul principal la sfârşitul perioadei de 13,3 ani fiind evaluarea mortalităţii de orice cauză. În grupul cu tratament intensiv s-au înregistrat 24 de decese, faţă de 40 la pacienţii cu tratament convenţional (p = 0,02). Tratamentul intensiv a scăzut riscul decesului de cauză cardiovasculară (p = 0,04) şi a evenimentelor de origine cardiovasculară (p < 0,001). Un pacient cu tratament intensiv a avut progresie către insuficienţă renală terminală, faţă de 6 în grupul de intervenţie convenţională. Efectele secundare datorate terapiei combinate au fost nesemnificative (Gaede P, Lund-Andersen H et al. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008 ; 358 : 580-591).

Corina Dima-Cozma

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

CERCETARI EPIDEMIOLOGICE DESCRIPTIVE ASUPRA NEOPLAZIILOR GENITO-MAMARE ÎN REGIUNEA DE NORD-EST A ROMÂNIEI

Mioara Matei[1,2], Şt. Olteanu[3], Corina Ciolpan[1], Doina Azoicăi[1,2]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină
1. Disciplina de Asistenţa Primară a Stării de Sănătate şi Epidemiologie
2. Unitatea de Epidemiologie Clinică Iaşi
3. Disciplina de Sănătate Publică şi Management

CROSS-SECTIONAL EPIDEMIOLOGICAL RESEARCHES ON GENITALS AND BREAST CANCERS IN THE NORTH-EAST REGION OF ROMANIA (Abstract). The genitals and breast cancers takes an important place in the women's pathology, either through the increase numbers of cases and also through the mortality induced by these cases. Aim : The descriptive evaluation of the genitals and breast cancers and there risk factors to women from North-Eastern region of Romania. **Material and method** : We have been included in the study 105 women (age range 23-77 years, mean 53,77) diagnosed with breast cancer, ovarian cancer, endometrial cancer and cervical cancer at the hospital admission, residency in the „Cuza Vodă" Iaşi Hospital - Obstetrics and Gynecology Clinic (I, II, and IV Gynecologic Clinics) and „Elena Doamna" Iaşi Hospital - Obstetrics and Gynecology Clinic (III Gynecologic Clinics) within 11 months. We have used a special questionnaire for the evaluation of the risk factors. Trained interviewers identified and questioned cases. The following parameters were assessed : marital status, educational level, age at menarche, age at the first sexual contact, age at first birth, parity, spontaneous abortions, period of breast-feeding, menopausal status, age at menopause, family history of cancers, personal history of gynecologic diseases, body mass index, oral contraceptive use, hormone replacement therapy use, environmental exposures, Pap test. After data collection, these have been codified and included in a MS Excel Database, in order to be processed with SPSS 13 and EpiInfo 3.4.3. (2007) softwares. **Results** : The following cases' repartition on diagnostic types was observed : breast cancer (41 cases), cervical cancer (24 cases), endometrial cancer (12 cases) and ovarian cancer (7 cases). The cases mean of age was 56,22 years for breast cancer, 46,29 for cervical cancer, 59,75 for endometrial cancer and 54,86 for ovarian cancer. In our study, the most affected range of age was 50-59 years for breast cancer (p = 0,00033), 40-49 years for cervical cancer (p = 0,00257), 60-69 years for endometrial cancer (p = 0,211) and 50-59 years for ovarian cancer (p = 0,032). A significant correlation was observed between types of neoplasia and obesity ($\div^2$ = 25,277, p = 0,046), HPV infection (χ^2 = 47,49, p = 0,022), stage (χ^2 = 88,27, p = 0,010) and between age and diagnostic (χ^2 = 252,15, p = 0,00017). From 84 cases, 10 have presented ASCUS lesions, 7 HGSIL, 4 carcinoma, 3 LGSIL and 1 AGCUS lesions. **Conclusion** : The diagnostic, educational level, age at first birth over 30 years was directly correlated with histological types. In our study, the mains factors correlated with types of neoplasia were obesity, HPV infections, stage and age.

Key words : CERVICAL CANCER, BREAST CANCER, OVARIAN CANCER, ENDOMETRIAL CANCER, RISK FACTORS.

Neoplaziile genito-mamare ocupă un loc important în patologia femeii, atât prin numărul mare de cazuri, cât şi prin mortalitatea produsă de acestea. Puţine studii epidemiologice au cercetat această problemă în România, şi mai ales în regiunea de nord-est a ţării (1,2,3). Dintre numeroşii factori de risc citaţi în literatura de specialitate trebuie identificaţi cei care se asociază cu creşterea numărului de cazuri la femeile din această regiune, pentru a putea preveni acţiunea factorilor care pot fi modificaţi şi apariţia bolii, precum şi pentru a putea depista boala în stadii incipiente.

SCOPUL STUDIULUI

Scopul acestui studiu pilot este de a evalua descriptiv neoplaziile genito-mamare şi factorii lor de risc la femeile din regiunea de Nord-Est a României.

OBIECTIVE

Obiectivele studiului sunt caracterizarea statistică a lotului studiat; identificarea şi cuantificarea factorilor de risc prezenţi la populaţia studiată; studierea asocierii şi corelaţiei dintre anumiţi factori de risc şi un anumit tip de neoplazie genito-mamară pentru lotul analizat.

MATERIAL ŞI METODĂ

Criterii de includere

Au fost incluse în studiu persoanele de sex feminin, diagnosticate la internare cu neoplazii mamare, ovariene, endometriale sau de col uterin, spitalizate în Spitalul Clinic de Obstetrică şi Ginecologie „Cuza Vodă" Iaşi (Clinicile I, II, şi IV de Ginecologie) şi Spitalul Clinic de Obstetrică şi Ginecologie „Elena Doamna" Iaşi (Clinica III Ginecologie) în perioada decembrie 2006-octombrie 2007. Nici un criteriu de vârstă nu a fost impus. Medici special instruiţi au recrutat cazurile şi au aplicat chestionarele la un număr de 105 persoane.

Pentru fiecare dintre persoanele care au acceptat să participe la studiu s-a completat un chestionar special conceput pentru evaluarea factorilor de risc. Această fişă a fost divizată în mai multe secţiuni: antecedente personale fiziologice şi patologice, antecedente heredo-colaterale, consumul de contraceptive orale, terapie hormonală de substituţie, expunerea la tabagism, numărul de teste Papanicolau efectuate, examenul citodiagnostic şi cel anatomo-patologic. Datele privind rezultatele testelor Papanicolau şi cele anatomo-patologice au fost consemnate din foile de observaţie ale pacientelor sau din registrele laboratorului de anatomie-patologică care lucrează piesele din clinicile respective (Spitalul Clinic de Obstetrică-Ginecologie „Cuza Vodă" şi Spitalul Clinic de Obstetrică-Ginecologie „Elena Doamna").

Pacientele au precizat data lor de naştere care a fost utilizată pentru calcularea vârstei. Apoi au precizat domiciliul actual (alegând dintre variantele urban/rural) şi judeţul. Pentru indicarea statusului marital participantele au ales din următoarele categorii: căsătorită, necăsătorită, divorţată, văduvă, concubinaj, recăsătorită, iar pentru nivelul educaţional variantele au fost: elementar (şcoală primară), mediu (liceu, şcoală prefesională), superior (facultate), fără studii.

Persoanele participante la studiu au precizat vârsta apariţiei primei menstruaţii, vârsta la debutul vieţii sexuale; vârsta la prima naştere, numărul de naşteri, numărul de avorturi, perioada cât au alăptat (în luni), vârsta la instalarea menopauzei (au ales din variantele: <40 de ani; 40-52 de ani; >52 de ani) şi modul de instalare al menopauzei (fiziologică/terapeutică). De asemenea, li s-a solocitat să precizeze dacă au fost diagnosticate vreodată cu neoplazii (altele decât diagnosticul actual), fibrom uterin, ovar polichistic, hiperplazie endometrială, endometrioză, polipoză uterină, infertilitate sau infecţii genitale (anexite, vaginite, cervicite, sifilis sau gonoree). S-au înregistrat şi valorile tensiunii arteriale (TAS, sistolocă şi TAD, diastolică).

Cazurile selectate au precizat dacă rudele de gradul I (mamă, soră), II (mătuşă, verişoară) şi III (bunică) au fost diagnosticate cu neoplazii de sân, ovar, endometru, colo-rectale sau de col uterin.

Am notat talia şi greutatea persoanelor investigate şi ulterior s-a calculat indicele de masă corporală [IMC = $G(Kg)/T^2(m^2)$]. Expunerea la tabagism a fost evaluată utilizând variantele: da (peste 5 ţigarete/zi, >3 ani sau <5 ţigarete/zi) sau nu. A fost, de asemenea, evaluat consumul de contraceptive orale şi terapia hormonală de substituţie. Am cerut cazurilor incluse în studiu să precizeze câte teste Papanicolau au efectuat.

La finalul chestionarului am precizat rezultatele examenului citodiagnostic Papanicolau (cu variantele ASCUS, LGSIL, HGSIL, AGUS) şi cele ale examenului anatomo-patologic, cu ajutorul cărora am stabilit tipul histologic şi stadiul.

Analiza datelor

După culegerea datelor, acestea au fost codificate şi introduse într-o bază de date realizată în Excel, pentru a putea fi prelucrate cu ajutorul programelor SPSS 13 şi EpiInfo 3.4.3. (2007). S-au utilizat statistici descriptive, chi^2, t-student, ANOVA, corelaţii şi regresii, calculate la un prag de semnificaţie de 5%.

Factorii de eroare

Erorile întâlnite în studiul nostru sunt erori sistematice legate de culegerea informaţiilor. Se datorează faptului că datele au fost adunate de mai mulţi medici, iar rezultatele anatomo-patologice interpretate de 2 medici diferiţi. Prin instruirea corectă a persoanelor care aplică fişa, precum şi prin validarea chestionarului aşteptăm ca aceste mici diferenţe să fie estompate pe viitor. Pentru a evita includerea în studiu a unor persoane la care diagnosticul anatomopatologic dovedeşte prezenţa altor leziuni decât cele neoplazice vom lua în eşantionul de cercetat persoane deja diagnosticate (anatomo-patologic) cu cancere genito-mamare la momentul internării. O altă categorie de erori poate să apară din mărimea insuficientă a lotului, dar pentru eşantionul calculat acestea vor fi anulate.

REZULTATE

Din cele 105 cazuri intervievate, 21 au fost excluse din studiu din următoarele motive: 12 au fost tumori benigne (conform examenului anatomo-patologic), la 8 nu am avut rezultatul examenului anatomo-patologic şi 1 persoană a refuzat participarea la studiu. Ca urmare, 84 de cazuri au fost eligibile pentru studiu (adică la sfârşitul studiului s-au regăsit 80% dintre subiecţi) (fig. 1). Acestea (cu vârste între 23 şi 77 de ani, media = 53,77 ani) au fost internate în Clinicile Universitare I, II, III şi IV de Ginecologie din Iaşi cu neoplazii genito-mamare şi ulterior au fost confirmate histologic.

În ceea ce priveşte repartiţia cazurilor pe tipuri de diagnostic, cancerul de sân este liderul cu 41 de cazuri, urmat de cancerul de col uterin cu 24 de cazuri, pe ultimul loc, fiind plasat cancerul ovarian cu 7 cazuri, $p<0,05x10^5$.

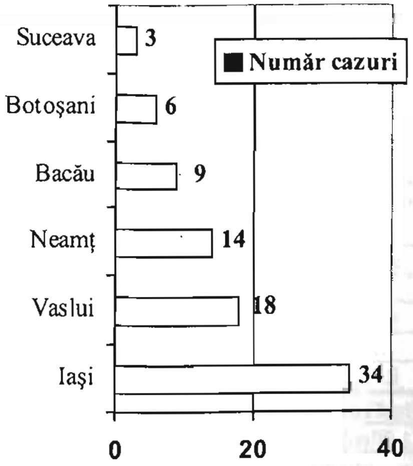


Fig. 1. Repartiţia cazurilor pe judeţe (regiunea de nord-est a României)

Mai mult de jumătate din femeile incluse în studiu au fost din mediul urban (p=0,02).

Întrucât Spitalele Clinice de Obstetrică şi Ginecologie „Cuza Vodă" şi „Elena Doamna" Iaşi sunt instituţii medicale universitare, dotate atât cu aparatură performantă, cât şi cu personal calificat, ele deservesc întreaga Regiune de Nord-Est a României pentru patologia ginecologică. Distribuţia cazurilor pe judeţe este prezentată în figura 1, unde se observă predominenţa femeilor din judeţul Iaşi comparativ cu celelalte judeţe din regiune ($p<0,05x10^5$).

În tabelele I, II şi III este prezentată distribuţia cazurilor cu neoplazii genito-mamare în funcţie de anumite variabile (vârstă, factori socio-demografici, fractori reproductivi, antecedente personale patologice, utilizarea de contraceptive orale, tratament fertilizant, fumat, indice de masă corporală - IMC), constituind factori de risc pentru afecţiunile respective. Dintre factorii studiaţi i-am prezentat în tabel numai pe cei care au fost mai frecvent întâlniţi la cazurile noastre.

Vârsta medie a cazurilor a fost de 56,22 ani pentru cancerul de sân, 46,29 ani pentru cancerul de col uterin, 59,75 ani pentru cel endometrial şi 54,86 ani pentru cel ovarian (tab. I). Statistica ANOVA indică un p= 0,001, adică există o diferenţă semnificativă între mediile de vârstă pentru fiecare tip de neoplazie genito-mamară (tab. II şi III). Pentru neoplazia mamară grupa de vârstă cea mai frecvent afectată este 50-59 ani (p= 0,00033), pentru tumorile maligne de col uterin cea mai afectată este grupa de vârstă 40-49 ani (p=0,00257), pentru cancerul endometrial, de 60-69 ani (p= 0,211), iar pentru neoplasmul ovarian de 50-59 ani (p= 0,032).

TABELUL I

Distribuţia cazurilor cu neoplazii genito-mamare în funcţie de caracteristici generale, regiunea de Nord-Est a României, decembrie 2006-octombrie 2007

	Cancer sân (n = 41)		**Cancer col uterin (n = 24)**		**Cancer endometru (n = 12)**		**Cancer ovar (n = 7)**	
	Nr.	**%**	**Nr.**	**%**	**Nr.**	**%**	**Nr.**	**%**
Vârsta (ani)								
media ± DS	56,22 ± 9,46		46,29 ± 11,61		59,75 ± 12,12		54,86 ± 9,75	
Minim – maxim	35-74		23-71		39-77		37-70	
? 29	0	0	1	4,2	0	0	0	0
30-39	1	2,44	4	16,7	1	8,3	1	14,29
40-49	10	24,39	11	45,8	3	25	0	0
50-59	16	39,02	6	25	1	8,3	5	71,43
60-69	10	24,39	0	0	5	41,7	0	0
70+	4	9,76	2	8,3	2	16,7	1	14,29
Date de stare civilă								
Căsătorită	31	75,61	19	79,2	7	58,3	4	57,14
Necăsătorită	1	2,44	1	4,2	1	8,3	-	-
Văduvă	7	17,07	3	12,5	3	25	1	14,29
Concubinaj	-	-	1	4,2	-	-	1	14,29
Divorţată	2	4,88	-	-	1	8,3	-	-
Recăsătorită	-	-	-	-	-	-	1	14,29
Nivel educaţional								
Elementar	13	31,71	7	29,2	5	41,7	3	42,86
Mediu	22	53,66	15	62,5	4	33,3	4	57,14
Superior	6	14,63	2	8,3	3	25	-	-

În ceea ce priveşte datele de stare civilă, pentru toate tipurile de neoplazii genito-mamare cele mai multe cazuri s-au înregistrat printre femeile căsătorite (75% din cazuri pentru cancerul de sân - $p<0,05x10^5$, 79,2% din cazuri pentru cancerul cervical - $p<0,05x10^5$, 58,3% pentru cel endometrial - p= 0,01367 şi 57,14% pentru cel ovarian - p= 0,1616) (tab. I).

Se poate observa, de asemenea, predominenţa celor cu studii medii pentru cancerul de sân (53,66% din cazuri, p= 0,00085), col uterin (62,5% din cazuri, p= 0,00031) şi cel ovarian (57,14%, p= 0,50). Pentru cancerul endometrial o frecvenţă mai crescută se înregistrează la femeile cu nivel elementar de pregătire (41,7% din cazuri, p= 0,68) (tab. I).

În tabelul IV se observă că vârsta la apariţia primei menstruaţii este peste 12 ani pentru toate cazurile de cancer endometrial şi ovarian. Pentru neoplazia mamară, majoritatea cazurilor (95,12%) au avut mai mult de 12 ani la instalarea menarhei ($p<0,05x10^5$), iar pentru cancerul de col uterin 95,8% au avut vârste de peste 12 ani la apariţia primei menstruaţii ($p<0,05x10^5$). În acelaşi tabel se observă că, pentru toate cazurile cu neoplazie cervicală, debutul vieţii sexuale a fost după 16 ani. Vârsta la prima naştere peste 30 ani s-a înregistrat pentru cancerul de sân la 4,88% din cazuri ($p<0,05x10^5$), iar pentru cancerul endometrial la 16,7% din cazuri (p= 0,00426). Numărul mediu de naşteri pentru cazurile cu cancer mamar este de 2,10, pentru neoplazia cervicală de 2,17, pentru cea endometrială de 1,58 şi 2,14 pentru cea ovariană (statistica ANOVA arată un p= 0,626).

Media numărului de avorturi este de 5,54 pentru femeile cu neoplasm de sân, 2,08 pentru cele cu cancer cervical, 1,83 pentru cele cu carcinom endometrial şi 2,58 pentru cele cu cancer ovarian (ANOVA calculează un p= 0,498).

În ceea ce priveşte vârsta la instalarea menopauzei, pentru toate tipurile de neoplazii genito-mamare predomină femeile din intervalul de vârstă 40-52 ani. Pentru cancerul mamar - 60,98% din cazuri,

TABELUL II

Statistica descriptivă pentru variabilele vârstă – tip de neoplazie genito-mamară

	Număr	Media	Deviatia standard	Eroarea standard	Interval de încredere 95% pentru medie		Minim	Maxim
					Valoarea minimă	Valoarea maximă		
Cancer de col uterin	24	46,29	11,611	2,370	41,39	51,19	23	71
Cancer de sân	41	56,22	9,464	1,478	53,23	59,21	35	74
Cancer ovarian	7	54,86	9,754	3,687	45,84	63,88	37	70
Cancer endometrial	12	59,75	12,129	3,501	52,04	67,46	39	77
Total	84	53,77	11,459	1,250	51,29	56,26	23	77

TABELUL III

Statistica ANOVA pentru variabilele vârstă – tip de neoplazie genito-mamară

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2025,613	3	675,204	6,088	0,001
Within Groups	8873,090	80	110,914		
Total	10898,702	83			

TABELUL IV

Distribuţia cazurilor cu neoplazii genito-mamare în funcţie de factorii reproductivi, regiunea de Nord-Est a României, decembrie 2006-octombrie 2007

	Cancer sân (n = 41)		Cancer col uterin (n = 24)		Cancer endometru (n = 12)		Cancer ovar (n = 7)	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Vârsta la prima menstruaţie (ani)								
≤ 12	2	4,88	1	4,2	-	-	-	-
> 12	39	95,12	23	95,8	12	100	7	100
Vârsta la debutul vieţii sexuale (ani) [(a)]								
≤ 16	1	2,44	-	-	1	8,3	-	-
> 16	40	97,56	23	95,8	11	91,7	7	100
Vârsta la prima naştere (ani)								
≤ 30	39	95,12	24	100	10	83,3	7	100
> 30	2	4,88	-	-	2	16,7	-	-
Număr naşteri								
media ± DS	2,13 ± 1,22		2,17 ± 1,49		1,58 ± 1,37		2,33 ± 1,21	
Minim – maxim	0 - 5		0 - 7		0 – 4		0 - 3	
Număr avorturi								
media ± DS	5,54 ± 4		2,08 ± 2,7		1,83 ± 2,58		2,58 ± 3,54	
Minim – maxim	0 - 18		0 - 13		0 – 8		0 - 10	
Vârsta la instalarea menopauzei (ani) [(b)]								
< 40	1	2,44	5	20,8	-	-	-	-
40 – 52	25	60,98	7	29,2	8	66,7	5	71,43
> 52	5	12,2	2	8,3	2	16,7	-	-

(a) 1 subiect fără viaţă sexuală

(b) numai pentru femeile în postmenopauză

$p<0,05x10^5$; pentru cele cu neoplazie de col uterin - 29,2% din cazuri, p= 0,1305; pentru cele cu cancer endometrial - 66,7% din cazuri, p= 0,025 (Fisher exact), iar pentru cele cu cancer ovarian - 71,43% din cazuri, p=0,143 (Fisher exact).

În tabelul V sunt prezentate informaţii legate de prezenţa infecţiilor genitale, a consumului de contraceptive orale, a tratamentului fertilizant, a infertilităţii, fumatului şi obezităţii în lotul studiat. Pentru cancerul de col uterin 50% din cazuri au prezentat vaginite în antecedentele personale, iar 41,7% din cazuri au indicat prezenţa cervicitelor în antecedente (p= 0,0386). Pentru neoplazia endometrială 33,3% au prezentat vaginite, p= 0,220 (Fisher exact) şi 25% au prezentat cervicite, p= 0,04122 (Fisher exact) în antecedente.

Consumul de contraceptive orale nu s-a remarcat decât pentru cazurile cu cancer de col uterin (20,8% din cazuri, p= 0,00017) şi pentru cele cu cancer endometrial (8,3% din cazuri, p= 0,00023). Tratamentul fertilizant a fost utilizat de 7,32% din cazurile diagnosticate cu cancer mamar, 8,3% din cele cu neo de col uterin şi neo endometrial şi deloc pentru cele cu neoplasm ovarian (tab. V).

Majoritatea cazurilor au fost incluse în categoria nefumătoarelor, astfel: pentru cancerul mamar - 87,8% din cazuri, $p<0,05x10^5$; pentru cel de col uterin - 87,5% din cazuri, $p= 0,009x10^4$; pentru cel ovarian - 85,71% din cazuri, p= 0,01456. Pentru neoplazia endometrială toate cazurile sunt nefumătoare (tab. V).

TABELUL V

Distribuţia cazurilor cu neoplazii genito-mamare în funcţie de alţi factori, regiunea de Nord-Est a României, decembrie 2006-octombrie 2007

	Cancer sân (n = 41)		Cancer col uterin (n = 24)		Cancer endometru (n = 12)		Cancer ovar (n = 7)	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Infecţii genitale [(a)]								
Vaginite	-	-	12	50	4	33,3	-	-
Cervicite	-	-	10	41,7	3	25	-	-
Consum de contraceptive orale								
Da	1	2,44	5	20,8	1	8,3	-	-
Nu	40	97,56	19	79,2	11	91,7	7	100
Tratament fertilizant								
Da	3	7,32	2	8,3	1	8,3	-	-
Nu	38	92,68	22	91,7	11	91,7	7	100
Infertilitate								
Da	1	2,44	1	4,2	1	8,3	-	-
Nu	40	97,56	23	95,8	11	91,7	7	100
Fumat								
Da	5	12,2	3	12,5	-	-	1	14,29
Nu	36	87,8	21	87,5	12	100	6	85,71
Indice de masă corporală (IMC) [(b)]								
18,5 – 24,9 (normoponderale)	8	19,51	12	50	5	41,7	2	28,57
25 – 29,9 (supraponderale)	18	43,9	6	25	2	16,7	2	28,57
> 30 (obezitate)	15	36,59	6	25	3	25	3	42,86

(a) numai pentru cele cu diagnostic de cancer de col uterin şi cancer endometrial

(b) 2 cazuri subponderale pentru cancerul de endometru

Pentru cazurile cu neoplasm de sân, cele mai multe sunt supraponderale (43,9% din cazuri), urmate de cele obeze cu 36,5% din cazuri (majoritatea - 80,49% din cazuri au un IMC > 25 Kg/m^2, p= 0,05). Pentru femeile cu cancer cervical, numărul celor supraponderale şi obeze (IMC > 25 Kg/m^2) este egal cu cel al cazurilor normoponderale (50% din cazuri). Pentru neoplasmul endometrial, procentele sunt egale (41,7% din cazuri) pentru normoponderale şi cele cu IMC peste 25 Kg/m^2, 2 cazuri sunt subponderale. Pentru cazurile diagnosticate cu cancer ovarian majoritatea sunt supraponderale şi obeze - 71,43% din cazuri, p= 0,143 (Fisher exact) (tab. V).

Tipurile histologice identificate la cele 84 de cazuri sunt prezentate în figurile 2 şi 3. Figura 2 prezintă distribuţia tipurilor histologice printre cazurile cu neoplazie mamară: 81% carcinom ductal invaziv, 8% carcinom mixt, 5% carcinom coloid, iar câte 2% carcinom lobular invaziv, carcinom medular şi tumoră phyllodes ($p<0,01x10^5$). În figura 3 sunt ilustrate tipurile histologice de cancer endometrial la cazurile studiate: 67% adenocarcinom, 17% carcinosarcom şi câte 8% carcinom scuamos şi endometrioid (p= 0,00172).

Pentru cancerul ovarian toate cazurile sunt adenocarcinoame, iar pentru cel de col

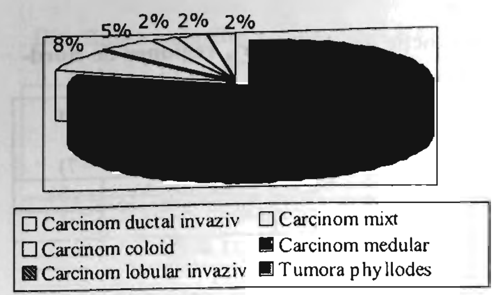


Fig. 2. Tipurile histologice pentru cancerul de sân

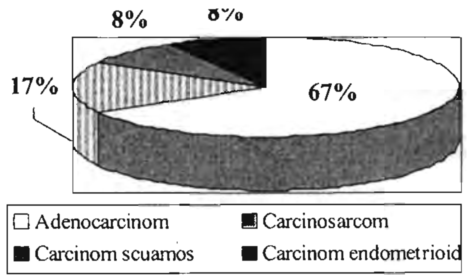


Fig. 3. Tipurile histologice pentru cancerul de endometru

TABELUL VI

Testul ANOVA pentru variabilele cantitative selectate

			Sum of Squares	**Df**	**Mean Square**	**F**	**Semnificație**
Vârsta * Diagnostic	**Between Groups**	**(Combined)**	2435,386	5	487,077	4,489	0,001
	Within Groups		8463,317	78	108,504		
Nastere * Diagnostic	**Between Groups**	**(Combined)**	5,851	5	1,170	0,662	0,654
	Within Groups		137,958	78	1,769		
Avorturi * Diagnostic	**Between Groups**	**(Combined)**	53,558	5	10,712	0,895	0,488
	Within Groups		933,108	78	11,963		
Alaptare * Diagnostic	**Between Groups**	**(Combined)**	354,493	5	70,899	0,231	0,948
	Within Groups		23942,400	78	306,954		

uterin 87% din cazuri sunt carcinoame scuamoase şi 13% adenocarcinoame (p= $0,009x10^4$).

În studiul nostru, cercetarea asocierii tipului histologic cu diagnosticul şi cu diferiţi factori de risc a evidenţiat corelaţii directe semnificative pentru tipul de neoplazie genito-mamară (p $<0,05x10^5$), nivelul educaţional (p $<0,05x10^5$) şi vârsta la prima naştere peste 30 de ani (p = 0,010).

Aplicarea testului chi^2 pentru coeficientul de corelaţie „r" evidenţiază o legătură directă semnificativă între obezitate şi tipul de neoplazie genito-mamară (χ^2 = 25,277, p= 0,046), între prezenţa infecţiei cu HPV şi tipul de neoplazie (χ^2 = 47,49, p= 0,022), între stadiu şi tipul de neoplazie (χ^2 = 88,27, p= 0,010), precum şi între vârstă şi diagnostic (χ^2 = 252,15, p= 0,00017).

Testul ANOVA pentru unele variabile cantitative selectate (vârstă - diagnostic, numărul de naşteri - diagnostic, numărul de avorturi - diagnostic, numărul de luni de alăptare - diagnostic) a prezentat ca fiind semnificativă asocierea vârstă - diagnostic (p = 0,001) (tab. VI).

În ceea ce priveşte efectuarea testului Papanicolau la femeile din întreg lotul şi modificările citologice evidenţiate la cele care au fost testate, se constată următoarele: din cele 84 de cazuri, 43 nu au fost testate, 16 nu au avut rezultatul, 10 au prezentat leziuni de tip ASCUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance), 7 au prezentat leziuni de tip HGSIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion), 4 de tip carcinom, 3 de tip LGSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion) şi 1 de tip AGCUS (Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance) (p$<0,05x10^5$).

Pentru persoanele cu cancer de col uterin examenul citodiagnostic a pus în evidenţă leziuni cu grad ridicat de risc (HGSIL) şi carcinom scuamos, precum şi prezenţa infecţiei cu HPV (*Human Papilloma Virus*), care constituie un important factor de risc pentru acest tip de neoplazie. 23 din cele 24 de cazuri cu neoplazie de col uterin au efectuat test Papanicolau, la 8 (33,33%) dintre acestea nu am avut rezultatul examenului, 6 (25%) au prezentat leziuni de tip ASCUS, 4 (16,67%) - leziuni de tip carcinom, 3 (12,5%) - de tip HGSIL şi câte un caz (4,17%) - leziuni de tip LGSIL şi AGCUS (p= 0,034).

DISCUŢII

Întrucât neoplaziile genito-mamare reprezintă o problemă reală a femeilor din orice ţară, preocupările pentru identificarea factorilor de risc, pentru determinarea prevalenţei acestora în populaţia feminină, precum şi pentru depistarea precoce sunt majore.

Căutând pe MEDLINE după cuvinte cheie am identificat: 166.292 articole pentru „breast cancer" (cancer de sân) din care 11.374 articole care cercetează factorii de risc, 48.344 articole pentru „cervical cancer" (cancer de col uterin) din care 3.155 pentru factori de risc, 49.760 articole pentru „ovarian cancer" (cancer ovarian) din care 2.293 pentru factori de risc şi 12.316 pentru „endometrial cancer" (cancer de endometru) din care 1.572 abordează factorii de risc.

Prezentul studiu evaluează descriptiv neoplaziile genito-mamare şi factorii lor de risc la femeile din regiunea de Nord-Est a României.

În acord cu literatura de specialitate şi studiul nostru plasează cancerul de sân pe locul I ca frecvenţă, urmat de cancerul de col uterin, neoplazia de endometru şi cancerul ovarian. Riscul pentru cancer de sân creşte cu vârsta, într-un ritm mai accelerat înainte de menopauză şi mai lent în perioada postmenopauzală. Cea mai mare frecvenţă de înregistrează la grupa de vârstă 50-64 ani (probabil ca urmare a programelor de screening) (4). În studiul nostru, cele mai multe cazuri s-au evidenţiat în intervalul de vârstă 50-59 ani (39,02%), urmat de grupele de vârstă 40-49 ani şi 60-69 ani, cu acelaşi procent (24,39%) (p= 0,00033). Pe ansamblul lotului studiat acest tip de neoplazie predomină la femeile cu vârstă între 50 şi 69 ani (63,41%).

În literatura de specialitate, menstruaţia precoce (sub 12 ani) şi menopauza tardivă (peste 52 ani) sunt asociate cu o creştere mare a riscului de cancer mamar (RR = 3, respectiv 2). Chlebowski R et al. comunică o frecvenţă a menarhei precoce de 28%, iar pentru menopauza tardivă de 14% (5). Pentru lotul studiat de noi, atât menarha precoce, cât şi menopauza peste 52 ani au fost mai puţin frecvente (4,88%, respectiv 12,2%). Pentru prima menstruaţie p= 0,00002 - diferenţă semnificativă, iar pentru menopauza tardivă p= 0,8334 - valorile studiului nostru sunt în acord cu cele ale lui Chlebowski R et al.

Vârsta la prima naştere peste 30 ani, un factor care creşte riscul pentru neoplazia mamară de 2 ori, are o frecvenţă de 8% în studiul menţionat mai sus, în timp ce actualul studiu comunică o frecvenţă de 4,88% (p= 0,5664). Nuliparele reprezintă o categorie de femei cu un risc mai crescut de a dezvolta tumori maligne de sân. În studiul nostru, frecvenţa acestui factor a fost de 7,32% (13% în studiul lui Chlebowski et al., p = 0,2385). Obezitatea creşte riscul pentru cancer de sân în postmenopauză. Acelaşi autor citat mai sus şi echipa sa raportează o frecvenţă de 34% pentru supraponderale şi 25% pentru obeze. Şi în studiul nostru am observat o predominenţă a femeilor cu un IMC peste 25 Kg/m^2 printre cazurile diagnosticate cu neoplasm de sân (43,9% supraponderale - IMC = 25-29,9 Kg/m^2) şi 36,59% obeze (IMC peste 30 Kg/m^2). Valorile de semnificaţie statistică sunt p= 0,1919 pentru supraponderale, respectiv p= 0,0926 pentru obeze, ceea ce ne arată că valorile găsite de noi sunt în acord cu literatura. Contraceptivele orale cresc riscul pentru cancer mamar într-o mai mică măsură, în funcţie de doza, tipul de hormoni şi perioada de utilizare. În lotul de studiu, 97,56% nu au utilizat contraceptive orale.

Frecvenţa cancerului ovarian este scăzută la femeile sub 40 ani, dar creşte rapid după menopauză. Studiile epidemiologice arată frecvenţa cea mai mare peste 50 ani (6,7,8,9,10,11). La cazurile noastre frecvenţa cea mai ridicată a fost întâlnită la grupa de vârstă 50-59 ani (în acord cu literatura), dar această diferenţă nu are semnificaţie statistică (p= 0,5). Menarha tardivă şi menopauza precoce sunt asociate cu o scădere modestă a riscului pentru neoplazia ovariană (6,7,10,11). Chiaffarino et al. semnalează o frecvenţă de 42,9% pentru menarha precoce şi de 20,8% pentru menopauza tardivă. În studiul nostru, la toate cazurile, prima menstruaţie a fost semnalată la vârste mai mari de 12 ani, iar menopauza la vârste între 40 şi 52 ani (71,43%). Aceste diferenţe pot fi explicate prin numărul mic de cazuri cu neoplasm ovarian cercetate de noi. Numărul de naşteri este, de asemenea, un factor asociat cu riscul pentru cancer ovarian. Evidenţele arată că sarcina protejează faţă de cancerul de ovar, iar efectul este cu atât mai puternic cu cât numărul de sarcini este mai mare (7, 10,11,12). În studiul lui Chiaffarino un procent de 28% din cazuri au prezentat mai mult de 3 naşteri. În cercetarea noastră, media numărului de naşteri a fost 2,33± 1,21 naşteri.

Morfologic, cancerele ovariene se clasifică în epiteliale (seros, mucinos, endometrioid, cu celule clare, alte tipuri - adenocarcinom, chistadenocarcinom), provenite din celule germinale, sex cord stromal şi altele. Aceste tipuri hostologice diferă atât ca linie celulară, incidenţă, factori de risc, rată de progresie, cât şi ca prognostic şi răspuns la tratament. Cel mai frecvent tip histologic este cel epitelial seros, urmat de epitelial - alte tipuri, mucinos şi endometrioid. În studiul nostru toate cazurile au fost adenocarcinoame.

Cancerul endometrial este caracteristic vârstelor peste 50 ani (1,13,14,15,16,17). Unii autori consemnează o frecvenţă a cazurilor peste 55 ani de 79% (15) şi 68% (16). În prezentul studiu 66,7% dintre femeile cu neoplazie endometrială aveau vârste peste 50 ani (p= 0,68 >0,05). Din cauza numărului mic de cazuri procentul găsit nu prezintă semnificaţie din punct de vedere statistic. Obezitatea, cel mai important factor de risc pentru tumorile maligne endometriale, a fost raportat în literatură cu o frecvenţă de 40,8% (43) sau 57,2% (15). În lotul nostru 41,7% dintre femeile cu acest tip de neoplazie genitală au fost obeze (p= 0,31976). Valorile noastre nu diferă semnificativ de cele evidenţiate de alţi autori.

Hipertensiunea arterială a fost evidenţiată la 22,2% din cazurile studiate de noi, faţă de 34,2% în literatură (14) (p= 0,083), diferenţa nefiind semnificativă statistic.

Statistica ANOVA ne arată că media vârstelor pentru fiecare tip de neoplazie diferă semnificativ, adică fiecare neoplazie genito-mamară afectează cu predilecţie o anumită categorie de vârstă, aşa cum am prezentat anterior.

CONCLUZII

Majoritatea cazurilor cu neoplazii genito-mamare studiate provin din mediul urban, cea mai mare proporţie fiind înregistrată în judeţul Iaşi.

În lotul studiat cazurile cu cancer de sân au fost mai frecvent femei din mediul urban, cu un nivel educaţional mediu (53,66%), cu vârstă cuprinsă între 50 şi 69 ani, în proporţie de aproximativ 80% supraponderale şi obeze.

Pentru cancerul ovarian, cele mai multe femei aparţin grupei de vârstă 50-59 ani (71,41%), majoritatea din urban, cu un nivel educaţional mediu (57,14%).

În privinţa cancerului endometrial, femeile din lotul studiat au avut vârsta medie de 59,75 ani, majoritatea (41,7%) cu un nivel educaţional elementar, în proporţie de 40% cu obezitate şi 8,3% cu infertilitate.

S-au corelat direct proporţional diagnosticul, nivelul educaţional şi vârsta la prima naştere peste 30 de ani cu tipul histologic, precum şi obezitatea, prezenţa infecţiei cu HPV, stadiul de boală şi vârsta cu tipul de neoplazie genito-mamară.

BIBLIOGRAFIE

1. Pricop M. *Oncologie ginecologică clinică.* Iaşi : Ed. Polirom, 2000, 229-230.
2. Sandovici I, Covic M. Predispoziţia genetică în cancerele mamare şi ovariene. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2002 ; 106 (3) : 451-463.
3. Socolov D, Anton C, Azoicăi D, Zanoschi C, Socolov R. Indicatori statistici ai cancerului de col uterin în România în perioada 1992-1997. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2000 : 104 (4) : 123-129.
4. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. Breast cancer - epidemiology, risk factors and genetics. *BMJ* 2000 ; 321 : 624-628.
5. Chlebowski RT, Anderson GL, Lane DS et al. Predicting risk of breast cancer in postmenopausal women by hormone receptor status. *J Natl Cancer Inst* 2007 ; 99 : 1695-1705.
6. Riman T, Nilsson S, Persson R. Review of epidemiological evidence for reproductive and hormonal factors in relation to the risk of epithelial ovarian malignancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004 ; 83 : 783-795.
7. Edmondson RJ, Monaghan JM. The epidemiology of ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2001 ; 11 : 423-429.
8. Purdie DM, Bain CJ, Webb PM, Witheman DC, Pirozzo S, Green AC. Body size and ovarian cancer : case-control study and systematic review (Australia). *Cancer Causes Control* 2001 ; 12 (9) : 855-863.
9. Kuper HV, Cramer D, Titus-Ernstoff L. Risk of ovarian cancer in the U.S. in relation to antropometric measures : does the association depend on menopausal status. *Cancer Cause Control* 2002 ; 13 : 455-463.
10. Hanna L, Adams M. Prevention of ovarian cancer. *Clin Obstet Gynecol* 2006 ; 20 (2) : 339-362.
11. Chiaffarino F, Parazzini F, Bosetti C et al. Risk factors for ovarian cancer histotypes. *Eur J Cancer* 2007 ; 43 : 1208-1213.
12. Riman T, Dickman PW, Nilsson S et al. Risk factors for invasive epithelial ovarian cancer : results from a Swedish case-control study. *Am J Epidemiol* 2002 ; 156 (4) : 363-373.
13. Parazzini F, Franceschi S, LaVecchia C, Chatenoud L, DiCintio E. The epidemiology of female genital tract cancers. *Int J Gynecol Cancer* 1997 ; 7 : 169-181.
14. Setiawan VW, Pike MC, Kolonel LN Nomura AM, Goodman MT, Henderson BE. Racial/ethnic differences in endometrial cancer risk : the multiethnic cohort study. *Am J Epidemiol* 2007 ; 165 : 262-270.
15. Saltzman BS, Doherty JA, Hill DA et al. Diabetes and endometrial cancer : an evaluation of the modifying effects of other known risk factors. *Am J Epidemiol* 2007, *in prosess*.
16. Collins JA, Schelsselman JJ. Perimenopausal use of reproductive hormones. Effects on breast and endometrial cancer. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2002 ; 29 : 511-525.
17. Reed SD, Voigt LF, Beresford SAA, Hill DA, Doherty JA, Weiss NS. Dose of progestin in post-menopausal-combined hormone therapy and risk of endometrial cancer. *Am J Epidemiol* 2004 ; 191 : 1146-1151.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

SENSIBILITATEA *IN VITRO* A STAFILOCOCILOR LA CIPROFLOXACIN

Cristina Tuchiluş, Antonia Poiată, D. Buiuc
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Microbiologie

IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF STAPHYLOCOCCI TO CIPROFLOXACIN (Abstract). Objective : To evaluate the *in vitro* activity of ciprofloxacin against communitary and hospital staphylococcal strains isolated during 2006-2008 in Eastern region of Romania. **Material and methods** : We have tested 1022 staphylococci strains, identified by conventional laboratory methods. Minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined by agar dilution method, according to NCCLS. **Results** : For both hospital and communitary isolates, MIC 90 was 0.25 mg/L (4 fold less than breakpoint for sensitivity). Resistance was absent or reduced (1.7%) for coagulase- positive staphylococci, both communitary and hospital. For coagulase negative staphylococci, resistance for clinical strains is increased (6%) compared to comunitary strains (0.3%). In conclusion, ciprofloxacin is highly effective against staphylococci representing a therapeutic option for multiresistant strains. Our data shown the necessity of adequate antibiotic use in the hospital and community. **Key words** : STAPHYLOCOCCI, *IN VITRO* ACTIVITY, CIPROFLOXACIN

Un moment important în dezvoltarea chinolonelor îl reprezintă introducerea fluorului în poziţia 6 şi apoi a unui substituent în poziţia 7 a nucleului de bază a moleculei chinolonice. Acest lucru a avut drept rezultat sinteza unei noi serii de chinolone (1,2). Fluorochinolonele sunt agenţi antibacterieni importanţi cu proprietăţi farmacocinetice deosebite (absorbţie, penetrare bună în ţesuturi) care fac ca acestea să fie prescrise în terapia infecţiilor necomplicate şi severe, pentru milioane de pacienţi, spitalizaţi şi nespitalizati, dar conservarea eficienţei terapeutice depinde de utilizarea lor raţională. Ciprofloxacinul posedă un spectru larg de acţiune, cu o activitate antimicrobiană remarcabilă asupra unui număr mare de specii, inclusiv *Pseudomonas aeruginosa* şi *Staphylococcus aureus* meticilin-rezistent (SMR), fiind unul dintre cei mai activi agenţi din grupul chinolonelor moderne (3).

Scopul acestui studiu a fost de analiza sensibilitatea faţă de ciprofloxacin a unor stafilococi, izolate clinice şi comunitare, colectate într-un interval de trei ani în estul României.

MATERIAL ŞI METODE

Tulpini bacteriene. Am investigat 1022 tulpini de stafilococi obţinute din diferite probe biologice de la pacienţi spitalizaţi şi de la indivizi sănătoşi din comunitate, izolate în perioada 2006-2008 şi identificate prin metode convenţionale de laborator (tab. I).

Testarea sensibilităţii. Concentraţiile minime inhibitorii (CMI) ale ciprofloxacinului le-am determinat prin metoda diluţiilor în agar Mueller-Hinton conform ghidului National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (4). Procentele de rezistenţă au fost calculate pe baza punctului de ruptură (breakpoint) recomandat de NCCLS (≤ 1 mg/L) pentru categoria total sensibil (izolatele moderat sensibile au fost clasificate ca rezistente). Pentru controlul de calitate al testărilor am utilizat tulpina de referinţă *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

TABELUL I

Distribuţia izolatelor incluse în studiu

Izolate testate	Nr. izolate/procent izolate
Izolate clinice	
Stafilococi coagulazo-pozitivi	239 (23,38%)
Stafilococi coagulazo-negativi	203 (19,86 %)
Izolate comunitare	
Stafilococi coagulazo-pozitivi	224 (21,91%)
Stafilococi coagulazo-negativi	356 (34,83%)
Total	1022 (100%)

TABELUL II

Activitatea *in vitro* a ciprofloxacinului asupra stafilococilor testaţi. Rezultatele sunt exprimate ca procente cumulative ale frecvenţelor CMI

Izolate	CMI (mg/L)							
	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8
Izolate clinice								
Stafilococi coagulazo-pozitivi	28,4	53,1	94,5	98,3	98,3	98,7	99,1	100
Stafilococi coagulazo-negativi	29,1	54,1	90,1	94	94	95	96	100
Izolate comunitare								
Stafilococi coagulazo-pozitivi	9	47,8	88,8	99,1	100			
Stafilococi coagulazo-negativi	15,2	54,2	99,7	99,7	99,7	99,7	100	

REZULTATE

Detalii privind activitatea ciprofloxacinului asupra stafilococilor exprimată ca valori procentuale cumulative ale CMI sunt prezentate în tabelul II.

Majoritatea izolatelor au fost inhibate de valori ale CMI mai mici de 2-4 ori (0,25-0,5 mg/L) comparativ cu valoarea punctului de ruptură (breakpoint) stabilit pentru ciprofloxacin.

Valorile distribuţiei CMI pentru categoriile investigate de stafilococi sunt prezentate în figura 1. La concentraţia de 0,25 mg/L se înregistrează cel mai mare procent de tulpini inhibate, din toate categoriile.

În tabelul III sunt prezentate datele privind sensibilitatea faţă de ciprofloxacin a izolatelor investigate, ca valori ale CMI 50, CMI 90, limite ale CMI şi rata rezistenţei.

Valorile CMI 90 ale ciprofloxacinului raportate la breakpoint stabilit sunt, pentru toate izolatele de 4 ori mai mici (0,25 mg/L). Rezistenţa este absentă sau redusă (1,7%) în cazul stafilococilor coagulazo-pozitivi izolate comunitare, respectiv clinice. Pentru stafilococii coagulazo-negativi, rata de rezistenţă a izolatelor clinice (6%) a fost mai mare comparativ cu cea a izolatelor comunitare (0,3%). Datele obţinute sugerează că rezistenţa la ciprofloxacin apare mai evident în cadrul stafilococilor coagulazo-negativi.

Datele comunicate pentru alte ţări europene indică rate de rezistenţă faţă de ciprofloxacin mai mari sau egale cu 13,5%. Stafilococii coagulazo pozitivi prezintă rate de rezistenţă mai mari în Franţa (30,5%), Austria (23,3%), Grecia (20,7%) şi mai mici în Italia (11,3%) sau 0% în Germania (5).

DISCUŢII

Studiul privind activitatea *in vitro* a ciprofloxacinului confirmă eficienţa deosebită asupra stafilococilor. Valorile CMI 50 şi CMI 90 şi limitele CMI obtinute în acest studiu sunt apropiate de cele raportate pentru stafilococi de Bauernfeind, pentru

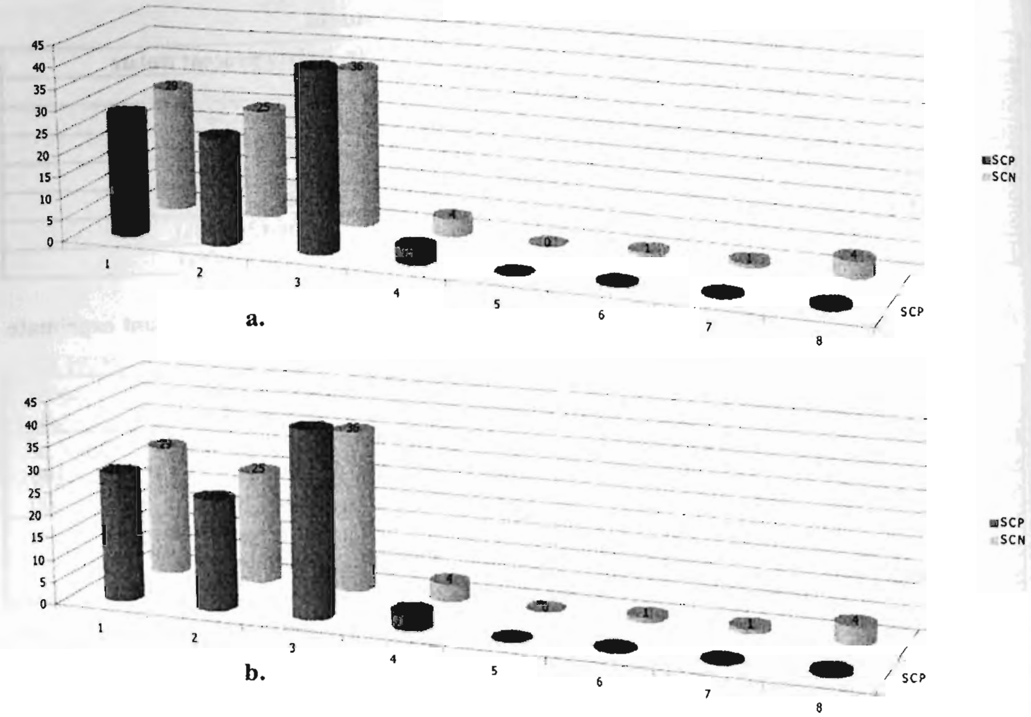


Fig. 1. Valorile procentuale ale CMI pentru ciprofloxacin corespunzătoare izolatelor de spital **(a)** şi comunitare **(b)**

TABELUL III

Activitatea *in vitro* a ciprofloxacinului asupra stafilococi testaţi, izolate clinice şi comunitare

Izolate	CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Limite CMI	Rezistenţa %
Izolate clinice				
Stafilococi CP	0,125	0,25	0,06-8	1,7
Stafilococi CN	0,125	0,25	0,06-8	6
Izolate comunitare				
Stafilococi CP	0,125	0,25	0,06-1	0
Stafilococi CN	0,125	0,25	0,06-4	0,3

Germania (6). Acesta comunică valori ale CMI 50 şi CMI 90 de 0,13 mg/L, respectiv 0,5 mg/L. CMI ale ciprofloxacinului au valori mai mari pentru izolatele clinice de stafilococi (limita superioară 8 mg/L). Însă, izolatele cu valori mari ale CMI sunt în majoritate tulpini SMR. Într-un studiu de supraveghere a rezistenţei, efectuat în Statele Unite şi Europa pe un număr de 41.000 de izolate clinice s-a comunicat un procent de sensibilitate la ciprofloxacin de 82%, respectiv 87% pentru ofloxacin (7).

Încă din 1984, când în Europa au fost comercializate primele fluorochinolone, consumul lor a crescut progresiv. Fluorochinolonele sunt utilizate mai frecvent în comunitate decât în spital. Studiile au arătat că din totalul chinolonelor, comunitatea consumă 75% în Germania şi 92% în Italia. Totuşi, în Italia, unde consumul de fluorochinolone în spital a fost moderat (89. 300 unitati standard pentru 1 milion de pacienţi), rata rezistenţei *S. aureus* a fost mai ridicată (11,3%) comparativ cu Germania (5,4%), unde consumul pentru 1990 a fost de 143.300 unităţi standard (5).

CONCLUZII

Rezultatele obţinute în studiul nostru reflectă eficienţa deosebită a ciprofloxacinului asupra stafilococilor, izolate comunitare şi de spital. Apariţia rezistenţei la fluorochinolone, raspândită mai ales printre stafilococii coagulazo- negativi, este o problemă clinică şi poate fi prevenită printr-o utilizare adecvată a acestor agenţi. Datele obţinute în studiile privind tendinţa evoluţiei rezistenţei, utilizate adecvat de clinicieni, de instituţiile de supraveghere a sănătăţii şi de companiile farmaceutice, reprezintă beneficii reale pentru sistemul naţional de supraveghere a sănătăţii populaţiei.

BIBLIOGRAFIE

1. 1. Hooper DC, Wolfson JS. Fluoroquinolone antimicrobial agents. *N Engl J Med* 1991, 324, 384-387.
2. Siporin C. The evolution of fluorinated quinolones: pharmacology, microbial activity, clinical uses and toxicities. *Ann Rev Microbiol* 1989; 43: 601-627.
3. Barcia-Macay M, Seral C, Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM, Van Bambeke F. Pharmacodynamic evaluation of the intracellular activities of antibiotics against S. aureus in a model of THP-1 macrophages. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 (3): 841-851.
4. *** National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. 5th ed. Approved Standard NCCLS Document M7-A5, Vol. 20, No. 2, NCCLS, Wayne, PA, 2004.
5. Kersken M, Hafner D, Mittermeyer H et al. and the Study group "Bacterial Resistance of the Paul Ehrlich Society for Chemotherapy. Prevalence of fluorochinolone resistance in Europe. *Infection* 1994; 22 (Suppl. 2): 90-98.
6. Bauernfeind A. Antimicrobial activity of ciprofloxacin: an overview. *1st International Ciprofloxacin Workshop Proceedings* 1985; 7-11.
7. Baron EJ, Jones RN. National survey of the in vitro spectrum of piperacillin- tazobactam tested against more than 40,000 aerobic clinical isolates from 236 medical centers. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21: 141-151.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

BACILI GRAM-NEGATIVI ANAEROBI IMPLICAŢI ÎN ETIOPATOGENIA ABCESELOR CU LOCALIZARE ÎN LOJILE SUPERFICIALE ALE FEŢEI ŞI GÂTULUI

Gabriela Băncescu[1], A. Băncescu[2], Silvia Dumitriu[1], N. Skaug[3]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "C. Davila" Bucureşti
Facultatea de Medicină Dentară
1 Disciplina de Microbiologie
Facultatea de Medicină
2 Disciplina de Epidemiologie
Universitatea din Bergen
3 Departmentul de Microbiologie Orală

ANAEROBIC GRAM-NEGATIVE BACILLI INVOLVED IN THE ETIOPATHOGENY OF THE ABSCESSES OF SUPERFICIAL FASCIAL SPACES OF THE FACE AND NECK (Abstract): The aim of this study was to isolate and identify at species level the strains of anaerobic Gram-negative bacilli (GNB) from pus samples collected in patients with abscesses of fascial spaces of the face and neck. Microscopy of Gram-stained smears and cultures were performed in each specimen. The strictly anaerobic GNB strains were identified using the conventional methods of diagnosis and the Rapid ID 32 A system. In addition, the other strains isolated in association with these bacteria were identified at least to genus level. The 28 anaerobic GNB isolates belonged to: *Fusobacterium nucleatum* and different species of *Prevotella* (4 species) and *Bacteroides* (3 species). Conclusions: The anaerobic GBN strains were recovered - either alone or in association with other migroorganisms - in more than half of all investigated samples and represented about 40% of all isolates. The most frequently isolated species were *P. melaninogenica* and *B. ureolyticus*. **Key words**: ANAEROBIC GRAM-NEGATIVE BACILLI, SUPERFICIAL FASCIAL SPACES ABSCESS, ORAL AND MAXILLOFACIAL INFECTIONS

Bacilii Gram-negativi (BGN) anaerobi reprezintă principalele bacterii implicate în etiopatogenia infecţiilor oro-maxilo-faciale (1,2,3,4), dintre care fac parte şi abcesele, afecţiuni piogene cu frecvenţă crescută în ţara noastră. Din aceste considerente, studiul de faţă a avut drept scop identificarea speciilor de BGN anaerobi izolate din abcese cu localizare în lojile superficiale ale feţei şi gâtului.

MATERIAL ŞI METODĂ

Produsele patologice ce au fost investigate microbiologic au fost reprezentate de probe de puroi, recoltate în cantitate de minimum 1ml, prin puncţie şi aspiraţie, de la 32 pacienţi (11 femei şi 21 bărbaţi, cu vârste între: 9–77 ani), diagnosticaţi cu abces localizat în una din lojile superficiale ale feţei şi gâtului, la Spitalul "Dr. Dan Theodorescu" din Bucureşti. Probele de puroi au fost transportate în mai puţin de 1h, la laboratorul Catedrei de Microbiologie, Facultatea de Medicină Dentară, U.M.F. "Carol Davila" - Bucureşti. Din fiecare probă de exudat inflamator s-au efectuat frotiuri colorate prin tehnica Gram şi însămânţări pe plăci Petri cu: agar Columbia cu 5% sânge de berbec, agar Schaedler cu 5% sânge de berbec şi menadionă şi agar Schaedler cu 5% sânge de berbec, menadionă şi vancomicină. Plăcile cu agar Columbia au fost incubate în jar, în atmosferă îmbogăţită cu CO_2, realizată cu ajutorul BBL® CampyPak*Plus* (Becton Dickinson Microbiology Systems, U.S.A.), la 37^{0}C, pentru 48h, iar plăcile cu mediu Schaedler selectiv şi neselectiv au fost incubate în alt jar, în atmosferă anaerobă, realizată cu ajutorul sistemului GasPakPlus™ (Becton Dickinson Microbiology Systems, U.S.A.), la 37^{0}C, timp de 7 zile.

Tulpinile de BGN anaerobi au fost identificate la nivel de gen, pe baza testelor convenţionale de diagnostic, incluzând şi examinarea pigmentogenezei şi producerea de fluorescenţă în urma expunerii culturii la radiaţii U.V.. Testul sensibilităţii la bilă, utilizând discuri impregnate cu 20% bilă, s-a făcut pe o placă cu agar Schaedler neselectiv împreună cu testarea sensibilităţii la: kanamicină, colimicină şi vancomicină, cu discuri impregnate cu: 1000 μg, 10 μg şi respectiv, 5 μg antibiotic (Becton Dickinson Microbiology Systems, USA) (5,6). Identificarea la nivel de specie a acestei categorii microbiene, ca dealtfel şi a tulpinilor anaerobe de bacili Gram-pozitivi (BGP) şi a celor anaerobe de coci Gram-pozitivi (CGP) izolate în asociere cu BGN strict anaerobi, s-a realizat cu ajutorul sistemului Rapid ID 32 A (Bio-Mérieux, Marcy-l'Etoile, France). Dintre bacteriile facultativ anaerobe au fost identificate la nivel de gen numai tulpinile izolate în asociere cu BGN anaerobi.

REZULTATE

Examenul microscopic al probelor de exudat inflamator provenite din cazurile investigate (17 abcese de lojă submandibulară, 9 abcese geniene, 4 abcese de lojă sublinguală şi 2 abcese de lojă submentonieră) a indicat prezenţa bacteriilor pe toate frotiurile examinate, mai puţin unul. Exceptând acest caz, de la care nu s-au obţinut nici culturi, din toate celelalte probe s-au înregistrat creşteri bacteriene pe cel puţin unul din mediile primare. În total, au

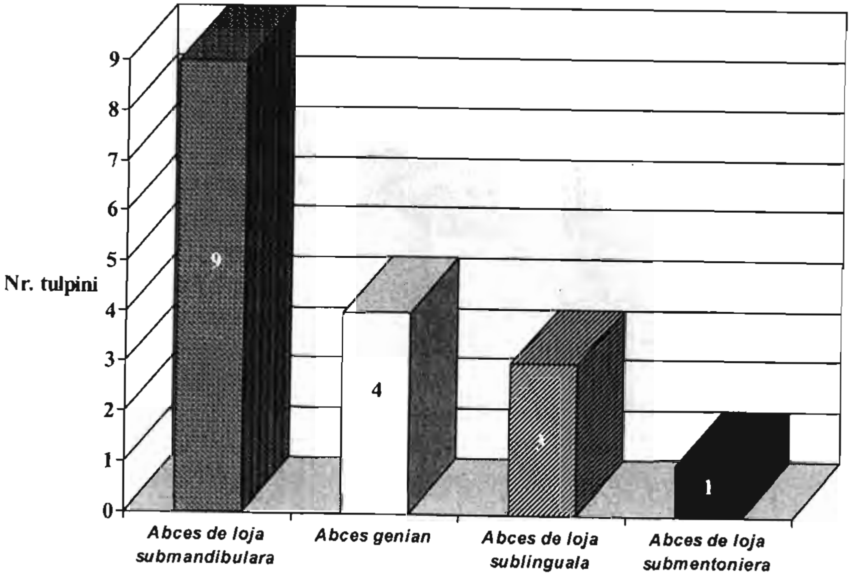


Fig. 1. Provenienţa probelor din care au fost izolate tulpini de BGN anaerobi

fost izolate 73 tulpini, dintre care 28 tulpini au fost reprezentate de BGN anaerobi, ce au provenit din 17 probe (fig. 1).

Dintre BGN anaerobi, 16 tulpini sensibile la bilă, rezistente la kanamicină şi vancomicină (13 tulpini fiind rezistente şi la colimicină) au fost identificate drept specii de *Prevotella*, respectiv: *P. melaninogenica* - 2 tulpini ce au produs pigment negru şi fluorescenţă cărămizie, *P. denticola* - 5 tulpini, *P. oralis* - 3 tulpini neproducătoare de pigment şi *P. loescheii* - 2 tulpini (fig. 2).

Trei tulpini anaerobe de BGN, rezistente la: bilă, kanamicină, colimicină şi vancomicină, au fost încadrate prezumtiv în grupul *Bacteroides fragilis*, iar sistemul Rapid ID 32 A a identificat o tulpină de *B. vulgatus* şi 2 tulpini de *B. uniformis*. Alte 6 tulpini anaerobe de BGN, sensibile la: bilă, kanamicină şi colimicină, însă rezistente la vancomicină şi care au dezvoltat colonii ce au produs o discretă depresiune în mediu, au fost identificate drept *B. ureolyticus*. Trei tulpini de BGN anaerobi fusiformi, sensibile la: bilă, kanamicină şi colimicină, dar rezistente la vancomicină, au fost identificate ca *F. nucleatum*.

Şapte tulpini anaerobe de CGP în lanţuri, depistate pe agarul Schaedler neselectiv în asociere cu tulpinile anaerobe de BGN au identificate drept *Peptostreptococcus anaerobius* (un izolat) şi *Peptostreptococcus micros* (6 izolate) - specie încadrată în urmă cu câţiva ani în genul *Micromonas*, în prezent fiind transferată în genul *Parvimonas* şi recunoscută ca specia *P. micra*. Dintre BGP anaerobi, un singur reprezentant a fost izolat împreună cu o tulpină de *Prevotella* şi una de *P. anaerobius*. Acesta a fost identificat drept *Eubacterium lentum*, specie transferată în momentul de faţă în genul *Eggerthella*, respectiv, specia *E. lenta*.

Dintre tulpinile facultativ anaerobe izolate în asociere cu tulpinile strict anaerobe de BGN, au fost identificate: 2 tulpini de stafilococ coagulazo-pozitiv, 10 tulpini de streptococi orali, o tulpină de enterococ, una aparţinând genului *Gemella* şi o altă tulpină (ce a prezentat fenomen de satelitism, crescând în jurul coloniilor unei tulpini de stafilococ beta-hemolitic) considerată a aparţine genului *Abiotrophia*. Asocierile de BGN anaerobi cu alte bacterii sunt prezentate în tabelul I (tab. I).

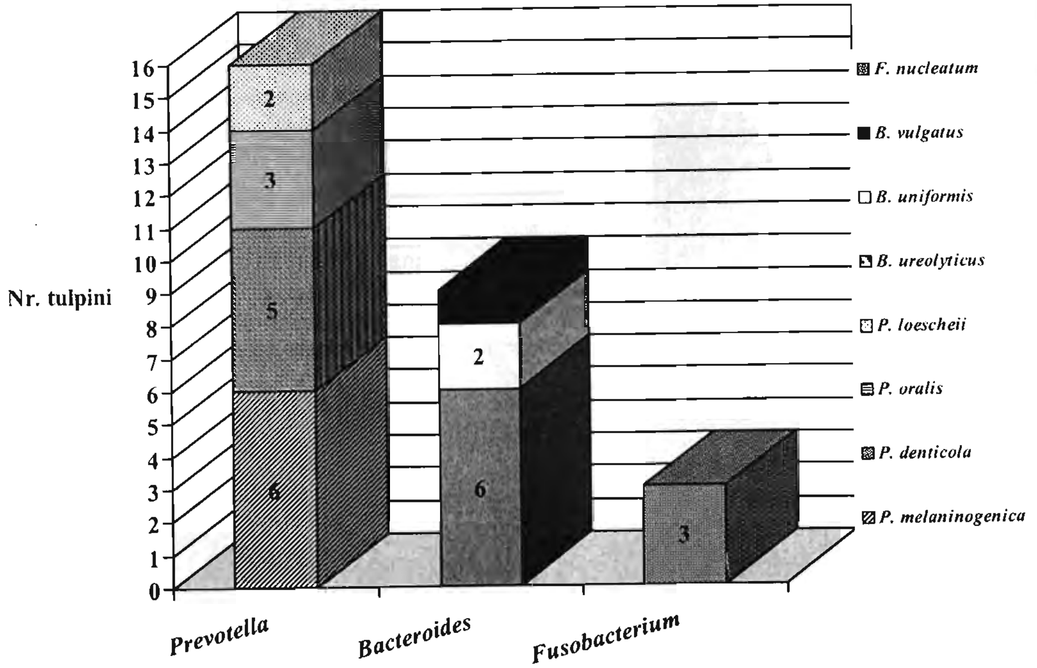


Fig. 2. Distribuţia pe specii a tulpinilor de BGN anaerobi

TABELUL I

Asocieri microbiene cu participarea BGN anaerobi

Nr. probe	Specii de BGN anaerobi	Alte specii anaerobe	Specii facultativ anaerobe
1	*P. denticola + P. loescheii*		
1	*P. denticola +*	*P. micros*	
1	*P. loescheii +*	*P. micros*	
1	*P. melaninogenica + B. ureolyticus*		
1	*F nucleatum +*		Streptococi orali
1	*F nucleatum +*	*P. micros +*	Streptococi orali
1	*P. denticola + P. oralis +*	*P. micros*	
1	*P. melaninogenica + B. uniformis +*	*P. micros*	
1	*P. melaninogenica + B. vulgatus +*		Streptococi orali
1	*P. melaninogenica + B. ureolyticus+*		Streptococi orali
1	*P. oralis + B. uniformis +*		Streptococi orali
1	*P. denticola + B. ureolyticus +*		Streptococi orali
1	*P. denticola + B. ureolyticus +*		Stafilococ coagulazo-pozitiv + *Abiotrophia* spp.
1	*P. oralis + B. ureolyticus +*		*Gemella* spp. + *Enterococcus* spp.
1	*P. melaninogenica +*	*E. lenta+ P. anaerobius +*	Streptococi orali
1	*F nucleatum + B. ureolyticus +*	*P. micros +*	Streptococi orali

DISCUŢII

Examinând creşterea microbiană pe mediile primare, s-a constatat prezenţa culturilor pe cel puţin unul din cele 3 medii utilizate în 96,8% cazuri. Creşterea bacteriană a lipsit numai în situaţia unei singure probe, acest aspect fiind în concordanţă cu rezultatul examenului microscopic al frotiului Gram din produsul patologic, ce a indicat absenţa bacteriilor. Tulpinile anaerobe de BGN au fost izolate din 53% probe, 9 provenind de la subiecţii de sex masculin şi 8 de la subiecţii de sex feminin. Tulpinile de BGN anaerobi au reprezentat 38,3% din totalul izolatelor microbiene. Procente ridicate ale izolării BGN anaerobi au fost raportate de majoritatea autorilor ce s-au ocupat de investigarea florei microbiene implicate în etiopatogenia infecţiilor oro-maxilo-faciale. Afecţiunile piogene oro-maxilo-faciale sunt în general, infecţii mixte, produse de o asociere de bacterii aerobe şi bacterii anaerobe (2,3,8). Lewis et al. au raportat izolarea tulpinilor anaerobe în proporţie de 43% din totalul izolărilor provenite din 78 cazuri de infecţii orale acute, predominând prevotelele, a căror proporţie s-a ridicat la 36% (9). Şi în studiul de faţă, speciile de BGN au fost găsite în majoritatea cazurilor în asociere cu alte bacterii anaerobe din acelaşi gen sau genuri diferite sau/şi cu bacterii facultativ anaerobe. Din ultima categorie au predominat streptococii orali, identificându-se însă şi: stafilococi, enterococi, gemele şi o tulpină de *Abiotrophia*. Este de menţionat faptul că din 2 probe recoltate din abcese localizate în loja submandibulară au fost izolate numai prevotele. Astfel, dintr-o probă a fost izolată o singură tulpină de *P. melaninogenica*, iar din altă probă au fost izolate 2 tulpini, una aparţinând speciei *P. denticola* şi cealaltă speciei *P. loescheii*.

Pentru identificarea la nivel de specie a izolatelor anaerobe s-a optat pentru sistemul Rapid ID 32 A, deoarece această metodă este standardizată, se bazează pe un număr mare de teste biochimice, este facilă şi rapidă, conferind rezultatul după 4h de la execuţie. De asemenea, sistemul Rapid ID 32 A a confirmat apartenenţa la genul microbian susţinut pe baza corelării caracterelor morfotinctoriale, a caracterelor de cultură şi a sensibilităţii la: bilă, kanamicină, colimicină şi vancomicină (5,10), permiţând şi identificarea speciilor.

O particularitate a studiului de faţă, a reprezentat-o faptul că nu au fost identificate tulpini de: *Tannerella forsythensis* (fosta specie *Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis* şi *Prevotella intermedia*, specii consacrate ca având rol în producerea afecţiunilor piogene oro-maxilo-faciale (2). Datele prezentei lucrări sunt în concordanţă cu raportările din literatura de specialitate, referitor la faptul că BGN reprezintă bacteriile anaerobe cel mai frecvent implicate în etiopatogenia infecţiilor oro-maxilo-faciale, drept pentru care, se recomandă identificarea acestora la nivel de specie, în cadrul diagnosticului microbiologic de rutină.

CONCLUZII

1. BGN anaerobi au fost izolaţi în peste jumătate din numărul cazurilor investigate.
2. BGN anaerobi au constituit aproximativ 40% din totalul izolatelor microbiene şi au fost reprezentaţi de genurile: *Prevotella*, *Bacteroides* şi *Fusobacterium*, pe primul loc ca frecvenţă clasându-se prevotelele.
3. Izolatele încadrate prezumtiv în genul *Fusobacterium* au aparţinut numai speciei *F. nucleatum*, în timp ce izolatele de *Bacteroides* şi *Prevotella* au putut fi încadrate în mai multe specii, cu predominarea *B. ureolyticus* şi a *P. melaninogenica*.
4. În cele mai multe cazuri, BGN anaerobi au fost depistaţi în asociere cu alte bacterii anaerobe, precum: *P. micra*, *P. anaerobius* şi *E. lenta* şi/sau bacterii facultativ anaerobe, cel mai frecvent cu streptococii orali.
5. Frecvenţa crescută a izolării BGN anaerobi din infecţiile oro-maxilo-faciale, motivează necesitatea identificării la nivel de specie a bacteriilor anaerobe în general şi subliniază importanţa investigării factorilor de patogenitate ai acestor microorganisme.

MULŢUMIRI

Adresăm mulţumiri studenţilor Facultăţii de Medicină Dentară şi cadrelor medicale din Spitalul "Dr. Dan Theodorescu", Bucureşti, ce ne-au ajutat la recoltarea probelor.

BIBLIOGRAFIE

1. Topazian RG, Goldberg MH. *Oral and Maxillofacial Infections*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders, 1994, 39-78.
2. Samaranayake LP. *Essential Microbiology for Dentistry*. New York: Churchill Livingstone, 1996, 293-299.
3. Burlibaşa C. Infecţiile oro-maxilofaciale. In: Burlibaşa C, editor. *Chirurgie orală şi maxilofacială*. ediţia a II-a. Bucureşti: Editura Medicală, 1999, 293-363.
4. Marsh P, Martin M. *Oral Microbiology*, 4th ed. Edinburgh: Wright, 2003, 127-136.
5. Jousimies-Somer HR, Summanen P, Citron DM, Barron EJ, Wexler HM, Finegold SM. *Wadsworth - KTL. Anaerobic Bacteriology Manual*. 6th ed. Belmont: Star Publishing Company, 2002.
6. Winn W, Allen S, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006, 877-944.
7. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. *Textbook of Diagnostic Microbiology*. 3rd ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007, 587-641.
8. Cawson RA, Odell EW. *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*. 7th ed. New York: Churchill Livingstone, 2002, 79-88.
9. Lewis MAO, Parkhurst CL, Douglas CWIJ et al. Prevalence of penicillin resistant bacteria in acute suppurative oral infection. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35: 785-791.
10. Buiuc D, Neguţ M. *Tratat de microbiologie clinică*. Bucureşti: Editura Medicală, 1999, 608-622.

NOUTĂŢI

UN CONSUM MODERAT DE VIN ESTE ASOCIAT CU SCĂDEREA PREVALENŢEI STEATOZEI HEPATICE NEALCOLICE (SHNA)

O echipă de cercetători din San Diego, California, a studiat efectul unui consum moderat de alcool asupra prevalenţei SHNA, incluzând subiecţi participanţi la cel de al treilea studiu naţional asupra sănătăţii şi nutriţiei, care fie au declarat absenţa consumului de alcool, fie preferinţa pentru un consum de 10 g de alcool zilnic (un pahar cu vin). Suspiciunea de SHNA s-a bazat pe valori ale ALAT >43 UI. Analiza multivariantă a fost efectuată ajustând asupra vârstei, sexului, rasei, nivelului de educaţie, venituri, consum de cafeină, activitate fizică. Studiul a cuprins 7211 de subiecţi abstinenţi şi 945 cu un consum moderat de alcool (vin). SHNA a fost diagnosticată la 8,6% din cei cu un consum moderat de vin (Odds ratio ajustată 0,51, interval de încredere 95% 0,33 - 0,79). Efectul a fost menţinut şi după ajustarea asupra indicelui de masă corporală. Acest studiu sugerează faptul că un consum moderat de vin este asociat cu scăderea prevalenţei steatozei hepatice nealcolice. De subliniat că acest efect nu a fost observat pentru un consum moderat de bere sau lichioruri. (Dunn W et all. Modest wine drinking and decreased prevalence of suspected nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2008; 47: 1947-1954).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

COMPORTAMENTUL ALIMENTAR LA PERSOANELE DE 55-70 DE ANI ÎN DIVERSE CONTEXTE PROFESIONALE

Emilia Pătru[1], Andreea Golli[2], Mădălina Manea[3], M. Dănoiu[4], Suzana Dănoiu[5]
Universitatea de Medicină şi Farmacie din Craiova
Facultatea de Medicină Dentară
1. Disciplina de Sănătate Publică şi Management
Facultatea de Medicină
2. Disciplina de Sănătate Publică şi Management
5. Disciplina de Fiziopatologie
Facultatea de Asistenţă Medicală şi Moaşe
3. Disciplina de Nursing
Universitatea din Craiova
Facultatea de Educaţie Fizică şiSport
4. Disciplina deFiziologie

NUTRITIONAL BEHAVIOUR AT PERSONS BETWEEN 55-70 YEARS OF AGE FROM DIFFERENT ACTIVITY DOMAINS (Abstract): In the present work we decided to find out more about nutritional behaviour at persons between 55-70 years from the four activity domains, representative for the professional background of the Dolj county (agriculture, education, industry and health), using the following hypothesis of work: the grade of medical culture specific for some groups of population induces decisive changes in the nutritional behaviour and, after that, in the health state and professional performance. **Material and method**: 129 subjects were included in the research, with the age between 55 and 70 years, selected from the recalled activity sectors. With the aim of knowing the nutritional behaviour, we have done a nutritional inquiry, each subject completed thee kinds of questionnairies. **Results**: The farmers and the subjects from industry preferred to eat cheese, eggs, vegetable concentrated lipids and cereal products which were consumed in excess; on the oher hand, they ate few meat and meat products, fish, animal concentrated lipids, vegetables and fruits, sugar and sweets. The educators preferred more various food: meat products, cheese, eggs, vegetable concentrated lipids, cereal products, bread, dried vegetables, sugar and sweets, but they consumed few milk, meat, vegetables and fruit. The food preffered by the persons coming from health was: meat and meat products,cheese, eggs, vegetable concentrated lipids, cereal products, dried vegetables but some of them were eaten in excess. Any proteins were consumed in excess by the subjects coming from agriculture, education and health, and almost normally by the persons coming from industry. Sweets were deficiently used by the persons coming from agriculture and industry and in excess by those ones coming from education and health. Lower caloric values were observed in patients belonging to the second age group coming from health and education. Mineral and vitamins consumption was in deficit in all the subjects we studied. **Conclusion**: We could identify two kinds of nutritional behaviour: one common for the persons from agriculture and industry and the other very resembling for the persons from educational and medical sector. **Key words**: NUTRITIONAL BEHAVIOUR, ELDERLY, NUTRITIONAL SURVEY

Comportamentul alimentar constituie ansamblul reacţiilor de răspuns faţă de stimulii interni sau externi, care reclamă aportul de alimente sau întreruperea actului alimentării. El cuprinde o serie de reacţii reflexe înnăscute (instincte), precum şi reacţii câştigate în cursul vieţii prin experienţă (1).

La om, comportamentul alimentar este generat de procesul alegerii (şi nu al selecţiei ca la animale), avantaj care poate avea efecte diferite, în raport cu circumstanţele existente: poate dirija în mod raţional consumul către nevoile organismului, înţelese corect şi acceptate ca ,,ştiinţific dovedite", sau poate devia consumul către un dezechilibru conştient acceptat ca riscant, dar preferat datorită satisfacerii unei nevoi interioare resimţite sub forma "plăcerii" (1).

După Jordan, citat de Mincu (1), comportamentul alimentar are patru mari componente: priza alimentară (cantitatea de alimente la o masă, numărul meselor, distanţa între mese, timpul acordat unei mese, timpul acordat masticaţiei); constantele fiziologice şi psihologice (preferinţele pentru anumite alimente, atitudinea faţă de diferitele alimente, foamea, dispoziţia fizică şi psihică); activităţile comportamentale prezente înainte sau în cursul mesei (plimbat, citit, urmărirea programului de televiziune etc.); stimulii externi, care preced sau care survin în cursul mesei (orarul meselor, locul unde se face aportul alimentar, prezenţa altor persoane, caracteristicile organoleptice ale alimentelor, disponibilitatea de alimente, capacitatea şi posibilitatea alegerii alimentelor).

MATERIAL ŞI METODĂ

În selectarea lotului (N = 129) am avut în vedere asigurarea omogenităţii şi reprezentativităţii acestuia, selectarea făcându-se tipic stratificat de gradul trei.

Prima treaptă a constat în alegerea celor patru sectoare de activitate (agricultură, industrie, învăţământ, sănătate), a doua treaptă în separarea pe genuri (masculin şi feminin) a fiecărui sector şi a treia treaptă în selectarea celor trei grupe de vârstă (55 - 59, 60 - 64 şi 65 - 70 de ani).

Subiecţii din agricultură au fost reprezentaţi de agricultori cu domiciliul în comuna Breasta.

Lotul subiecţilor din industrie a cuprins muncitori care lucrează sau care au lucrat în industrie în mediul fără noxe la Societatea Comercială Electroputere S.A.

Lotul din învăţământ a fost format din profesori în activitate sau pensionari de la Grupul Şcolar Industrial Energetic Craiova şi Grupul Şcolar Industrial Construcţii Maşini Nr. 2 Craiova.

Ultimul lot a fost constituit din medici aflaţi în perioada activă sau pensionari din Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Craiova (tab. I).

Pentru cercetarea comportamentului alimentar şi a modului de viaţă am efectuat ancheta alimentară în care am folosit trei tipuri de chestionare: chestionar privind tipul şi cantitatea alimentaţiei obişnuite timp de o săptămână, chestionar privind frecvenţa de consumare a diferitelor produse alimentare şi chestionar privind statusul socio-economic, profesional şi starea de sănătate.

S-a folosit metoda înregistrării tuturor alimentelor consumate timp de 7 zile, în fiecare din cele patru anotimpuri ale anului.

S-a calculat consumul zilnic pe grupe de alimente şi folosind tabelele de compoziţie ale alimentelor întocmite de Ministerul Sănătăţii (2) s-a obţinut consumul mediu zilnic de proteine, lipide, glucide, calorii, elemente minerale (calciu, fosfor, fier) şi vitamine (A, B_1, B_2, PP, C) al meniurilor consumate.

Acest consum a fost comparat cu raţiile recomandate de normele de alimentaţie ale Ministerului Sănătăţii (3,4) pentru membrii eşantionului ţinând seama de structura acestuia (gen, grupă de vârstă şi intensitatea activităţii profesionale).

TABELUL I

Distribuţia subiecţilor în funcţie de sectorul de activitate, de gen şi de grupa de vârstă în lot

Genul	Grupa de vârstă	Agr.		Ind.		Înv.		San.		Total
		Nr.sub.	%	Nr.sub.	%	Nr.sub.	%	Nr.sub.	%	
Masculin	55-59	4	12,5	13	39,35	7	21,87	4	12,50	28
	60-64	3	9,37	4	12,12	5	15,62	4	12,50	16
	65-70	9	28,12	3	9,09	3	9,09	4	12,50	19
Total		16	50	20	60,60	15	46,87	12	37,50	63
Feminin	55-59	5	15,62	5	15,15	9	28,12	12	37,50	31
	60-64	3	9,37	4	12,12	4	12,50	5	15,62	16
	65-70	8	25	4	12,12	4	12.50	3	9,37	19
Total		16	50	13	39,39	17	53,12	20	62,50	66
Total general		32	100	33	100	32	100	32	100	129

Raportarea consumului de alimente ca şi al nutrientelor energogene şi neenergogene s-a făcut în funcţie de grupele de vârstă prevăzute de normele de alimentaţie recomandate (bărbaţi până la 65 de ani şi femei până la 60 de ani = subiecţi din primul segment de vârstă ; bărbaţi peste 65 de ani şi femei peste 60 de ani = subiecţi din cel de-al doilea segment de vârstă) (3,4).

Am avut în vedere următoarea clasificare a variaţiilor înregistrate în aportul de elemente minerale şi vitamine : uşoare, între +/- 10-20% ; moderate, între +/- 20-30% ; importante, peste 30%.

Compararea mediilor s-a facut cu ajutorul testului Student sau Kruskal-Wallis.

La testele de comparare a mediilor am folosit următoarea interpretare a valorilor lui p :

- $p < 0.05$, diferenţa între cele două medii este semnificativă (S).
- $p < 0.01$, diferenţa între cele două medii este înalt semnificativă (HS).
- $p < 0.001$, diferenţa între cele două medii este foarte înalt semnificativă (VHS).
- $p > 0.05$, diferenţa între cele două medii este nesemnificativă (NS).

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Consumul mediu zilnic pe grupe de alimente

În sublotul subiecţilor din *agricultură*, indiferent de vârstă, bărbaţii au consumat nesemnificativ mai multe brânzeturi şi ouă. precum şi grăsimi concentrate vegetale şi derivate de cereale (ultimele valori fiind asigurate bine şi respectiv foarte bine statistic prin t semnificativ respectiv t înalt semnificativ). Cei din cel de-al doilea segment de vârstă au consumat în plus, un exces de pâine (t = 4,95) şi legume uscate. Toate femeile au consumat în exces brânzeturi, ouă, grăsimi concentrate vegetale, pâine şi derivate de cereale (valori statistice înalt semnificative pentru femeile din cel de-al doilea segment de vârstă). Cele din primul segment de vârstă au folosit în plus o cantitate nesemnificativ mai mare de preparate din carne, iar cele din cel de-al doilea segment de vârstă, legume uscate (5,6).

În *industrie,* bărbaţii din primul segment de vârstă au consumat mai mult, dar nesemnificativ, ouă, grăsimi concentrate vegetale precum şi brânzeturi şi derivate de cereale (ultimele două valori fiind asigurate statistic cu t înalt semnificativ). Cei din cel de-al doilea segment de vârstă au inclus în alimentaţie în plus faţă de acestea, legume uscate, zahăr şi produse zaharoase (valori neasigurate statistic). Toate femeile au folosit în exces cantităţi nesemnificative de brânzeturi, ouă, grăsimi concentrate vegetale şi cantităţi semnificativ mai mari de derivate de cereale. Cele din cel de-al doilea segment de vârstă au consumat în plus mai multă pâine.

Bărbaţii din *învăţământ* au consumat mai mult brânzeturi, grăsimi concentrate vegetale şi derivate de cereale (consumul fiind înalt semnificativ pentru bărbaţii din primul segment de vârstă) (7,8,9,10). Cei din primul segment de vârstă au folosit în plus preparate de carne (valori asigurate cu t înalt semnificativ), iar cei din cel de-al doilea segment de vârstă cantităţi nesemnificativ mai mari de ouă, pâine şi cantităţi care au fost asigurate statistic foarte bine şi respectiv bine de legume uscate, zahăr şi produse zaharoase. Cele din primul segment de vârstă au consumat în plus, nesemnificativ, preparate din carne, iar cele din cel de-al doilea segment de vârstă, pâine şi legume uscate.

Toţi bărbaţii din *sănătate* au consumat în exces, dar nesemnificativ, carne şi preparate de carne, brânzeturi, ouă, grăsimi concentrate vegetale, derivate de cereale (pentru cei din cel de-al doilea segment de vârstă valorile au fost asigurate statistic cu t semnificativ). Cei din de-al doilea segment de vârstă au folosit în plus, peşte. Femeile au consumat cantităţi mai mari de grăsimi concentrate vegetale şi derivate de cereale (t = 7,89 , t = 9,89 respectiv t = 3,67 , t = 5,01), precum şi brânzeturi, ouă şi pâine, cele din primul segment de vârstă şi peşte, iar cele din cel de-al doilea segment de vârstă şi legume uscate.

Folosirea în alimentaţia zilnică a unui număr restrâns de alimente de către persoanele din agricultură şi industrie ar putea fi explicată prin insuficienta cunoaştere a valorii nutritive a alimentelor, ceea ce conduce la procurarea unor produse accesibile şi eventual generatoare de senzaţii gustative plăcute, dar şi prin resursele financiare scăzute care nu le permit acestora alegerea în vederea realizării unei alimentaţii echilibrate nutritiv şi caloric (11,12,13,14).

Preferinţa individuală pentru anumite alimente în dauna altora în vederea satisfacerii unor aspecte hedonice pe de o parte, precum şi un aport alimentar bogat caloric, pe de altă parte, deviază consumul alimentar al persoanelor din învăţământ către dezechilibre multiple (15,16).

Aparentele cunoştinţe privind o alimentaţie sănătoasă întâlnite la subiecţii din sănătate nu sunt respectate decât rareori (5,17).

Consumul mediu zilnic de nutriente şi aportul caloric raportate la recomandările MS

Proteine

S-a observat un consum mai mare la subiecţii din agricultură şi învăţământ, dar nesemnificativ (tab. nr.2), care a înregistrat creşteri înalt semnificative la persoanele din cel de-al doilea segment de vârstă (t = 4,001, t = 5,861), respectiv la toate persoanele (t = 5,47, t = 12,73, t = 20,34).

Persoanele din industrie au înregistrat un aport scăzut, cu excepţia femeilor din cel de-al doilea segment de vârstă, iar subiecţii din sănătate creşteri semnificative la femeile din acelaşi segment de vârstă (t = 3,267).

După provenienţă, aportul de proteine de origine animală a fost mai mare, de asemenea, la persoanele din învăţământ (valori asigurate statistic cu t înalt semnificativ), dar şi la bărbaţii din sănătate (valori asigurate statistic bine, respectiv foarte bine), precum şi la femeile din cel de-al doilea segment de vârstă din agricultură (t = 2,274). La bărbaţii din cel de-al doilea segment de vârstă din industrie s-a observat un consum mai mic (1,7).

Aportul de proteine vegetale a fost mai mare la femeile din cel de-al doilea segment de vârstă din agricultură şi din învăţământ (asigurat statistic foarte bine cu t înalt semnificativ). Un aport scăzut semnificativ s-a înregistrat la bărbaţii din cel de-al doilea segment de vârstă din sănătate (tab. II).

Lipide

La subiecţii din sănătate şi învăţământ s-a constatat un aport mai mare (diferenţă foarte înalt semnificativă, sub $p < 0,001$)

TABELUL II

Valorile medii ale aportului zilnic de *proteine* în funcţie de sectorul de activitate în lot

Sectorul de activitate	Nr. subiecţi	Media	Deviaţia standard	P – statistic (testul Kruskal-Wallis)
Agricultură	32	89,139	16,039	0,236251
Industrie	33	80,501	20,108	
Învăţământ	32	89,677	16,441	
Sănătate	32	86,658	22,815	

TABELUL III

Valorile medii ale aportului zilnic de *lipide* în funcţie de sectorul de activitate în lot

Sectorul de activitate	Nr. subiecţi	Media	Deviaţia standard	P – statistic (testul Kruskal-Wallis)
Agricultură	32	83,6	18,571	0,000308
Industrie	33	78,833	23,953	
Învăţământ	32	99,718	24,563	
Sănătate	32	100,103	23,396	

(tab. III). Aceştia au prezentat creşteri înalt semnificative la femeile din învăţământ (t = 6,493, t =12,96) şi din sănătate (t = 3,928, t = 4,384).

Bărbaţii din primul segment de vârstă din industrie au înregistrat un aport scăzut (valori asigurate statistic cu t înalt semnificativ), iar femeile din cel de-al doilea segment de vârstă din agricultură un aport crescut (t = 5,061).

Lipidele de origine animală au fost consumate insuficient de toate persoanele din lot, cu excepţia femeilor din primul segment de vârstă din agricultură şi a bărbaţilor din cel de-al doilea segment de vârstă din sănătate, la care s-au observat creşteri nesemnificative (7,8,18,19).

Lipidele de origine vegetală au fost consumate în exces de toţi subiecţii din lot (valori asigurate statistic foarte bine cu t înalt semnificativ la femeile din cel de-al doilea segment de vârstă din agricultură şi industrie, precum şi la bărbaţii din primul segment de vârstă din învăţământ şi sănătate). Femeile din primul segment de vârstă din agricultură au prezentat un consum scăzut, nesemnificativ.

Raportul mediu AGPNS/AGS a fost supraunitar la persoanele din întreg lotul indiferent de gen (5,7,11), fiind cuprins la bărbaţi între 1,05 (învăţământ) şi 1,57 (industrie) şi la femei între 1,28 (învăţământ) şi 1,81 (industrie).

Glucide

Persoanele din agricultură şi din industrie au consumat mai mult produse alimentare conţinând glucide pure ($p < 0{,}01$)(tab. IV).

Un aport scăzut s-a înregistrat la bărbaţii din industrie şi sănătate (valori asigurate statistic cu t semnificativ, respectiv t înalt semnificativ la bărbaţii din primul segment de vârstă), precum şi la femeile din primul segment de vârstă din industrie şi sănătate şi la bărbaţii din acelaşi segment de vârstă din agricultură (t = 3,181).

S-a remarcat un aport crescut la femeile din cel de-al doilea segment de vârstă din toate sectoarele de activitate, precum şi la bărbaţii din acelaşi segment de vârstă din agricultură (t = 3,017)

Elemente minerale

S-a observat un aport mediu zilnic de calciu mai mic la femeile din industrie şi la toţi subiecţii din agricultură indiferent de gen. Persoanele din învăţământ şi sănătate au înregistrat un aport normal (20,21).

Determinând calcemia s-a constatat că, din cei 25 de subiecţi cu aport de calciu normal (din învăţământ şi sănătate), 17 au înregistrat hipocalcemie. Valorile scăzute ale calciului se pot explica şi prin faptul că aportul hiperlipidic înregistrat la aceşti subiecţi ar putea influenţa negativ absorbţia calciului alături de alţi factori.

TABELUL IV

Valorile medii ale aportului zilnic de *glucide* în funcţie de sectorul de activitate în lot

Sectorul de activitate	Nr. subiecţi	Media	Deviaţia standard	P – statistic (testul Kruskal-Wallis)
Agricultură	32	361,868	60,805	**0,001233**
Industrie	33	369,347	116,894	
Învăţământ	32	344,716	136,106	
Sănătate	32	290,703	73,22	

TABELUL V

Valorile medii ale aportului zilnic de *calorii* în funcţie de sectorul de activitate în lot

Sectorul de activitate	Nr. subiecţi	Media	Deviaţia standard	P – statistic (testul Kruskal-Wallis)
Agricultură	32	2625,96	422,352	0,169462
Industrie	33	2484,296	603,117	
Învăţământ	32	2635,528	465,758	
Sănătate	32	2368,615	607,323	

Aportul mediu zilnic de fosfor şi fier a fost mai mic la toţi subiecţii din lot, indiferent de sectorul de activitate, de gen sau de grupa de vârstă (15,22).

La toate persoanele întegistrate, deşi consumul de fier a fost deficitar, sideremia a înregistrat valori normale la 39 de subiecţi din 40 investigaţi. Aceasta s-ar putea explica şi prin intervalul mare de normalitate al fierului sanguin (37-181 μg/dL).

Vitamine

Aportul mediu zilnic de vitamina A pare normal la bărbaţii şi femeile din primul segment de vârstă din industrie, la bărbaţii din cel de-al doilea segment de vârstă din agricultură şi la femeile din primul segment de vârstă din învăţământ. Restul subiecţilor din întreg lotul au prezentat aport mai mic decât recomandările.

Consumul de vitamina B_1 şi B_2 a fost deficitar pentru toţi subiecţii din lot (13, 15,23). Aportul deficitar de vitamina PP s-a înregistrat la subiecţii din toate subloturile. Excepţie au făcut bărbaţii din cel de-al doilea segment de vârstă din sănătate, la care s-a înregistrat un consum normal. Vitamina C a fost consumată insuficient de subiecţii din lot, cu excepţia bărbaţilor din cel de-al doilea segment de vârstă din învăţământ şi a subiecţilor de ambele genuri, din acelaşi segment de vârstă, din sănătate.

De semnalat este faptul că cifrele înregistrate s-au referit la valorile medii zilnice statistice de vitamine şi nu la valorile biologice care au fost mai reduse, deoarece unele legume au fost consumate după tratarea termică, ocazie cu care vitaminele A, B_1, B_2, PP şi C s-au putut pierde s-au inactiva uşor.

De asemenea, a fost deficitar consumul de fructe crude.

În realitate aportul de vitamine a fost şi mai redus şi datorită faptului, că unele alimente conţin şi corpuri străine şi părţi necomestibile (oase, coji, sâmburi), care cu ocazia consumului sau pregătirii s-au îndepărtat. Deficienţele de aport ale vitaminelor evocate nu s-au însoţit de semne clinice.

Nu s-a efectuat din meniurile subiecţilor controlul vitaminelor (A, B_1, B_2, PP, C) expuse acţiunii agresive a pregătirii culinare prin probe de laborator din motive financiare.

Minerale

Cauza deficitului de calciu s-a datorat

aportului foarte scăzut de produse lactate din consumul zilnic.

Fosforul şi fierul prezente în cantităţi mai mici decât cele recomandate au avut o biodisponibilitate scăzută pentru că au provenit mai ales din alimente de origine vegetală (cereale, fasole albă şi legume).

Aportul caloric

Aportul caloric a fost mai crescut în învăţământ şi agricultură, dar nesemnificativ (tab. V).

Au prezentat un aport mic de calorii persoanele din industrie şi bărbaţii din primul segment de vârstă din agricultură (24,25).

Creşteri înalt semnificative statistic s-au observat la femeile din cel de-al doilea segment de vârstă din agricultură (t = 7,015), precum şi la persoanele de ambele genuri din acelaşi segment de vârstă din învăţământ şi sănătate (valori asigurate foarte bine statistic ; t =20,06, t =17,569, t = 6,514, t = 3,876).

Identificarea unor tipuri de comportamente alimentare observate în lot

Nu am reuşit, să evidenţiem un comportament alimentar tipic pentru fiecare sublot prin aplicarea tuturor criteriilor alese (cantitatea de alimente consumată la o masă, numărul meselor pe zi, timpul acordat unei mese, timpul acordat masticaţiei, alimentele preferate, alimentele consumate în deficit, mediul în care s-a consumat alimentul, structura meniului, abaterile înregistrate privind nutrientele şi valoarera calorică), deoarece nu toate criteriile s-au dovedit a avea capacitate de discriminare (13,16).

Dintre criteriile avute în vedere, următoarele nu au dispus de capacitate de discriminare : cronologia meselor, timpul acordat masticaţiei, abateri înregistrate (nutriente, valoare calorică).

Au avut o bună capacitate de discriminare următoarele criterii : cantitatea de alimente consumată la o masă, timpul acordat unei mese, alimentele preferate, alimentele consumate în deficit, structura meniului.

Luând în considerare cele cinci criterii care au avut capacitate de discriminare, am distins două tipuri de comportamente alimentare în lot, unul foarte asemănător la persoanele din industrie şi agricultură şi un alt comportament alimentar asemănător la persoanele din învăţământ şi sănătate (9, 10,26).

Primul comportament alimentar s-a caracterizat printr-o cantitate mică de alimente la o masă ingerată într-un timp scurt, cu meniuri în care pe lângă brânză şi ouă, pâinea şi alte produse din cereale (făină, orez, arpacaş, paste făinoase, mălai) au constituit alimente de bază, ce au acoperit o mare parte din necesarul de proteine, glucide şi calorii. Carnea şi preparatele din carne, peştele şi preparatele din peşte, legumele şi fructele au fost alimente reprezentate insuficient în structura meniului.

Cel de-al doilea comportament alimentar asemănător la subiecţii din învăţământ şi sănătate s-a caracterizat prin cantităţi de alimente ce nu au depăşit 1000 grame pe o masă, ingerate în 30-45 de minute.Carnea şi preparatele din carne, peştele şi preparatele din peşte au fost bine reprezentate în meniuri, în timp ce laptele, legumele şi fructele au fost deficitare.

CONCLUZII

1. S-a constatat un consum insuficient, nesemnificativ, pentru persoanele din agricultură şi industrie la lapte, preparate de carne, peşte precum şi la carne, legume şi fructe, iar pentru persoanele din învăţământ şi sănătate la lapte, legume şi fructe. Consumul a depăşit însă recomandările pentru subiecţii din agricultură şi industrie la brânzeturi, ouă, grăsimi concentrate vegetale, derivate de cereale, iar pentru subiecţii din învăţământ şi sănătate la brânzeturi, ouă, grăsimi concentrate vegetale, derivate de cereale, peşte, carne şi preparate de carne şi produse zaharoase.

2. S-a remarcat un consum de proteine mai apropiat de cel recomandat la subiecţii din industrie care s-a făcut prin consum de proteine vegetale provenite din derivate de cereale şi leguminoase uscate. Carenţa de proteine de origine animală a fost datorată consumului insuficient de carne, peşte şi produse lactate. Consumul de ouă a compensat parţial cantitatea redusă de proteine de această origine.

3. Meniurile au adus cantităţi de lipide aproape de necesar, de asemenea, la persoanele din industrie, dar şi la cele din agricultură, cu excepţia bărbaţilor din primul segment de vârstă care au prezentat scăderi mari şi, a femeilor din cel de-al doilea segment de vârstă care au prezentat creşteri importante. Apropierea raţiei de lipide totale de necesarul mediu zilnic s-a realizat prin consum de lipide vegetale provenite din margarină şi uleiuri vegetale.

4. Un aport de glucide apropiat de necesarul recomandat s-a înregistrat la subiecţii din învăţământ cu excepţia femeilor din cel de-al doilea segment de vârstă.

5.Consumul de calorii a fost mai mare la persoanele din cel de-al doilea segment de vârstă, indiferent de gen, din toate sectoarele de activitate cu excepţia bărbaţilor din industrie.

6. Ipoteza formulată de noi privind posibilele tipuri de comportament alimentar funcţie de sectorul de activitate profesională nu a fost confirmată dacă ne referim la toate criteriile selectate de noi. În condiţiile în care am luat în considerare doar un număr limitat de criterii, am putut identifica două tipuri de comportamente alimentare : unul comun pentru persoanele din industrie şi agricultură şi altul foarte asemănător pentru persoanele din învăţământ şi sănătate.

BIBLIOGRAFIE

1. Mincu I, Popescu A, Ionescu-Târgovişte C. *Elemente de biochimie şi fiziologie a nutriţiei.* Bucureşti : Ed. Medicală, 1985.
2. *** *Buletinul Ministerului Sănătăţii, 2* - uz intern, anul al XXXI-lea. Tabele de compoziţie a produselor alimentare.
3. *** Ministerul Sănătăţii. Norme de medicina muncii aprobate prin Ordinul Ministerului Sănătăţii nr. 1957/1995. *Monitorul Oficial al României* partea 1, 60 bis, 26 martie 1996.
4. *** *Ordinul Ministerului Sănătăţii şi Familiei privind Normele de alimentaţie raţională.* Anexa 3.
5. Lesourd B. Nutrition et vieillissement. *Impact Médecin* 1992 ; 153, XVII-XIX.
6. Lovis-Sylvestre J. Les fautes d'alimentation : les conséquences sur les réglations mètaboliques et sur le recouvrement des besoins tant quantitatives autant calitatives. *Méd et Nutr* 1991 ; XXVII (5) : 295-299.
7. Mincu I, Marinescu E. *Alimentaţia raţională şi sănătatea.* Bucureşti : Ed. Sport-Turism, 1984.
8. Moldovan L, Moldovan RS. *Supravegherea sănătăţii decizionalilor.* Arad : Ed. Societăţii Culturale şi Ştiinţifice ,,Ivan Kraski", 2000.
9. Niculescu T, Todea A, Toma I, Pavel A. *Medicina Muncii II.* Bucureşti : Ed. Medmun, 2001.
10. Niculescu T, Todea A, Toma I, Pavel A. *Medicina Muncii III.* Bucureşti : Ed. Medmun, 2002.
11. Bedö C, Dumitrache S. Trebuinţele nutriţionale ale omului sănătos. In : Mănescu S editor. *Tratat de Igienă.* vol. II. Bucureşti : Ed. Medicală, 1985.
12. DeGrange M. L'alimentation contribue à un vieillissement réussi. *Impact Médecin* 1999 ; 470 : 63-64.
13. Gherghel P. *Fiziologia cu elemente de comportament.* Cluj Napoca : Ed. Casa Cărţi de Ştiinţă, 2000, 425-440.
14. *** *Législation sanitaire et personnes âgées.* OMS Publications régionales, série européenne, 33, 1990.
15. Bălăceanu-Stolnici C. *Geriatrie practică.* Bucureşti : Ed. Medicală Amalteia, 1998.
16. Ionescu-Târgovişte C. *Necesitate şi abuz în alimentaţie.* Bucureşti : Ed. Medicală, 1981

17. Lyon M, DiWetta V, Schutz J. L'évaluation de l'alimentation au cabinet médical : l'utilité d'une méthode récurente à un magnétofon. *Méd et Hyg* 1994 ; 23 : 401-406.
18. Mogoş V. *Alimentaţia în bolile de nutriţie şi metabolism*. Bucureşti : Ed. Didactică şi Pedagogică RA, 1997.
19. Martin J-P. Anoréxie du sujet âgé. *La Révue du praticien* – Médecine générale 1997 ; 403 : 33–36.
20. Moulias R. Le vieillissement normal. *Impact Médecin* 1992 ; 154 : III.
21. Pham K L'état de santé de 13392 personnes âgées au Nord Việt Nam. Santé Publique 1981 ; XXIV (2-3) : 284-296.
22. Prada GI. *Geriatrie şi gerontologie. Note de curs*. vol. 1. Bucureşti : Ed. Medicală, 2001
23. Thorton B. *Les 10 lois universelles de la santé*. Les Editions Quebecor, 2000.
24. Constantinoiu M. Pensionari puşi la treabă în străinătate. *Jurnalul Naţional* 2004, XII, 3423 : 16.
25. Trebici Vl. Vârsta şi activitatea profesională. *Viitorul social* 1988 ; LXXXI (5) : 455-458.
26. Mincu I. Boli de nutriţie şi metabolice. In : Păun R editor. *Medicină internă*. vol. V. Bucureşti : Ed. Medicală, 1986.

NOUTĂŢI

UTILIZAREA PREPARATULUI ETANERCEPT ÎN TRATAMENTUL COPIILOR ŞI ADOLESCENŢILOR CU PSORIAZIS

Preparatul Etanercept, inhibitor al factorului de necroză tumorală, a fost testat în psoriazisul adultului cu rezultate favorabile şi autorii studiului de faţă propun utilizarea sa şi la tineri adolescenţi sau copii. Preparatul a fost administrat 12 săptămâni la doza de 0,8mg/kg după care s-a efectuat prima evaluare şi s-a decis întreruperea tratamentului sau continuarea în manieră deschisă. În săptămâna 12, scorul de ameliorare a manifestărilor psoriazisului PASI 75 a fost realizat în proporţie de 57% la pacienţii din lotul cu Etanercept, faţă de lotul placebo unde s-a realizat în proporţie de 11% ($p<0,001$). Ulterior, în grupul cu Etanercept, semnificativ mai mulţi pacienţi au avut scoruri ameliorate PASI 50 (75% vs 23%), PASI 90 (27% vs 7%). În timpul perioadei de întrerupere, între săptămâna 36-48, răspunsul terapeutic s-a pierdut la 29 din 69 pacienţi (42%). Patru cazuri de efecte adverse (inclusiv 3 infecţii) au apărut pe parcursul tratamentului cu Etanercept (Paller AS, Siegfried EC, et al. Etanercept treatment for children and adolescents with plaque psoriasis. *N Engl J Med* 2008 ; 358 : 241-251).

Corina Dima-Cozma

EXISTĂ O RELAŢIE LINEARĂ ÎNTRE VALOAREA PLASMATICĂ A TSH ŞI MORTALITATEA CORONARIANĂ LE SEXUL FEMININ

Un studiu de cohortă prospectivă, realizat în Norvegia, a evaluat asocierea dintre nivelurile plasmatice ale TSH-ului şi riscul de deces prin maladie coronariană. Studiul a cuprins 17311 femei şi 8002 bărbaţi fără afecţiuni tiroidiene sau coronariene şi în absenţa diabetului zaharat, durata medie de supraveghere fiind de 8,2 ani. S-au observat 228 de decese de cauză coronariană la sexul feminin şi 182 la sexul masculin ; dintre aceştia la 192 femei şi respectiv 164 bărbaţi s-au determinat valorile TSH care au fost cuprinse între 0,50 şi 3,50 mU/l (valori de referinţă). Global, nivelul TSH-ului a fost asociat pozitiv cu mortalitatea de cauză coronariană ($p=0,01$), fiind statistic semnificativ doar pentru sexul feminine ($p=0,005$). Atunci când valorile TSH-ului sunt spre limita superioară a normalului, în absenţa unei hipotiroidii, se poate face o corelaţie între acest semn pur biologic şi riscul de deces prin boală coronariană. (Asvold BO et al. Thyrotropin Levels and Risk of Fatal Coronary Disease. The HUNT Study. *Arch Intern Med* 2008 ; 168 : 855-860).

Al.D. Ciochină

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR **ARTICOLE ORIGINALE**

CONSUMUL DE ALIMENTE ÎN RELAŢIE CU CANCERUL COLO-RECTAL. STUDIU ECOLOGIC ÎN ROMÂNIA

Corneluţa Fira-Mladinescu[1], O. Fira-Mladinescu[1], Sorina Doroftei[1], Felicia Sas[2], S. Ursoniu[1], R. Ionuţ[3], Salomeia Putnoky[1], Oana Suciu[1], Brigitha Vlaicu[1]
Universitatea de Medicină şi Farmacie "V. Babeş" Timişoara
1. Centrul de Studii în Medicină Preventivă
Autoritatea de Sănătate Publică Timiş
2. Biroul de Statistică şi Informatică Medicală
Universitatea de Medicină şi Farmacie "I. Haţieganu" Cluj-Napoca
3. Catedra de Medicina Muncii

FOOD INTAKE AND COLORECTAL CANCERS ; AN ECOLOGICAL STUDY IN ROMANIA (Abstract) : The aim of the present study performed in a Romanian population was to identify the food which can be either associated with or protect against colorectal carcinoma. **Material and method** : Correlation and regression analysis were used to examine the association between dietary intake and the rate of incidence for colon, rectum and anus cancers, in study groups from 7 regions of Romania. **Results** : A strong and positive association was observed for colonic cancer and the intake of coffee, tea and cocoa ($r=0.77$, $p=0.042$) whereas statistical significance of borderline value was found for margarine ($r=0.73$, $p=0.06$) and sweets ($r=0.74$, $p=0.066$) intake. A potential protective effect can be attributed to wine consumption ($r=-0.75$, $p=0.03$). The malignancies of the rectum and anus showed both a strong positive correlation with the intake of red meat ($r=0.76$, $p=0.048$), sausages ($r=0.87$, $p=0.012$), margarine ($r=0.97$, $p=0.0004$), butter ($r=0.76$, $p=0.049$), sweets ($r=0.93$, $p=0.003$), beverages ($r=0.97$, $p=0.0003$), coffee, tea, cocoa ($r=0.94$, $p=0.002$). Negative correlations were reported for the recto-anal cancer and the consumption of : fish ($r=-0.8$, $p=0.032$), cheese ($r=-0.9$, $p=0.006$), wine ($r=-0.85$, $p=0.015$). **Conclusion** : The need for reducing the dietary intake of margarine, red meat, sausages and sweets while the beneficial effects of wine consumption have been also confirmed. **Key words** : COLONIC CANCER, RECTO-ANAL CANCER, DIET

Primele evidenţe sistematice dintre dietă şi cancer care sugerează că principalele cauze ale celor mai multe cancere au mediul ca origine şi că dieta poate fi un factor major, derivă din studiile de corelaţie (1,2).

Studiul de faţă şi-a propus o evaluare a incidenţei cancerului colo-rectal în relaţie cu factorul aliment, pe baza datelor existente în şapte regiuni statistice ale României. S-a pornit de la premisa că există diferenţe între regiuni în ceea ce priveşte consumul şi obiceiurile alimentare, diferenţe care, posibil, să se reflecte asupra ratelor de incidenţă.

Designul studiului a permis atingerea următoarelor obiective : (i) cunoaşterea ratelor incidenţei cancerului de colon, rect şi anus pe zone geografice ; (ii) cunoaşterea consumului alimentar pe grupe de alimente dar şi pe subtipuri, la populaţia investigată ; (iii) evidenţierea unor modele de consum caracteristice regiunilor ţării, şi (iv) stabilirea corelaţiei între consumul de alimente şi ratele incidenţei cancerelor.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul a avut drept ţintă populaţia corespunzătoare următoarelor regiuni statistice ale României: Regiunea de Nord-Est, Regiunea de Sud-Est, Regiunea Sud-Muntenia, Regiunea Sud-Vest-Oltenia, Regiunea de Vest, Regiunea de Nord-Vest, Regiunea de Centru. Pe această populaţie s-a investigat incidenţa cancerul de colon (C18) şi a cancerul de joncţiune recto-sigmoidiană, rect şi anus (C19-21) în relaţie cu consumul alimentar. Cancerele sunt codificate în baza Clasificării Internaţionale a Bolilor. În categoria cancerelor de rect şi anus am inclus cancerele de joncţiune recto-sigmoidiană, rect şi anus.

Rata incidenţei cancerului pe regiuni s-a calculat pornind de la datele existente la nivel de judeţe, având ca punct de plecare registrul de cancer din fiecare judeţ. Datele de incidenţă au fost furnizate de către Centrul de Statistică Sanitară şi Documentare Medicală al Ministerului Sănătăţii. Investigaţia a cuprins o perioadă de 10 ani (1994-2003), luându-se în calcul media acestei perioade.

Datele privind consumul alimentar al populaţiei din regiunile investigate au avut la bază anchetele alimentare efectuate de Institutul Naţional de Statistică din România în anii 2001, 2002, 2003 (3,4,5). S-a luat în studiu această perioadă deoarece numai din anul 2001, Institutul Naţional de Statistică a prezentat consumul alimentar pe regiuni de dezvoltare. Consumul a fost transformat şi exprimat în grame sau mililitri pe zi şi pe persoană (6,7).

Compararea ratelor de incidenţă brută a fost posibilă prin faptul că structura de vârstă a populaţiei din regiunile investigate nu a prezentat diferenţe foarte mari. Compararea mediilor de incidenţă a cancerului şi de consum alimentar a fost făcută folosind testul de analiză a variaţiei ANOVA. Relaţia statistică dintre ratele incidenţei unor forme de cancer şi aportul alimentar a fost stabilită cu ajutorul corelaţiei (prin coeficientul Pearson) şi al regresiei liniare (prin valoarea coeficientului β şi al lui p). S-au luat în considerare pentru relaţiile puternice valorile lui $r \geq |0,7|$ şi $p < 0,05$.

REZULTATE

Date privind incidenţa cancerului în regiunile de dezvoltare ale României

Mediile incidenţelor cancerului de colon şi de rect şi anus, calculate pentru o perioadă de zece ani (1994-2003) în cele şapte regiuni investigate, sunt prezentate în tabelul I.

Se observă rate mari de incidenţă pentru cancerul de rect şi anus (8,29 - 11,89 cazuri la 100.000 locuitori) şi pentru cancerul de colon (7,28 - 9,54 cazuri la 100.000 locuitori).

Făcând o ierarhizare a regiunilor investigate în funcţie de ratele de apariţie a cancerelor luate în studiu, rezultă că valorile cele mai mari le deţine regiunea de Vest a ţării, urmată de regiunile de Centru şi de Nord-Vest. Diferenţele constatate între medii sunt semnificative statistic.

Date privind consumul de alimente în regiunile de dezvoltare ale României

Ceea ce diferenţiază din punct de vede-

TABELUL I

Incidenţele medii ale cancerului în regiunile investigate

Localizare cancer	Regiune							P
	Nord-Est	Sud-Est	Sud	Sud-Vest	Vest	Nord-Vest	Centru	
Colon	9,48 ± 2,16	9,06 ± 2,63	9,31 ± 2,81	7,28 ± 1,97	12,13 ± 3,98	9,54 ± 1,86	9,39 ± 3,07	0,002
Rect şi anus	8,70 ± 1,85	9,25 ± 2,74	8,45 ± 2,72	8,29 ± 2,61	11,89 ± 3,01	10,74 ± 1,76	11,21 ± 3,02	0,008

TABELUL II

Consumul mediu de alimente în regiunile investigate

Grupe de alimente	Regiune							P
	Nord-Est	Sud-Est	Sud	Sud-Vest	Vest	Nord-Vest	Centru	
Carne total	71,62 ± 7,50	82,52 ± 4,64	72,20 ± 3,52	84,85 ± 3,09	84,48 ± 5,47	66,94 ± 4,92	71,97 ± 3,82	0,002
Carne roşie	30,50 ± 3,07	34,68 ± 1,35	36,52 ± 3,64	29,61 ± 1,43	39,34 ± 2,03	34,31 ± 1,72	40,89 ± 3,12	0,001
Preparate din carne	24,88 ± 2,36	23,10 ± 2,22	26,31 ± 0,74	29,04 ± 0,77	39,78 ± 1,54	32,39 ± 1,27	34,64 ± 0,55	< 0,001
Peşte şi produse	12,41 ± 0,60	21,42 ± 0,10	16,24 ± 0,36	15,09 ± 0,48	4,82 ± 0,89	2,92 ± 0,73	6,07 ± 0,71	< 0,001
Lapte	243,07 ± 12,07	149,15 ± 2,06	173,08 ± 2,69	164,30 ± 7,42	209,10 ± 5,80	254,75 ± 0,87	211,95 ± 2,39	< 0,001
Brânzeturi	34,81 ± 1,75	31,97 ± 0,67	39,26 ± 1,19	40,15 ± 0,55	26,94 ± 1,70	23,60 ± 0,81	21,01 ± 0,40	< 0,001
Ouă	22,92 ± 1,03	23,66 ± 0,58	21,91 ± 0,43	27,56 ± 0,69	24,16 ± 0,13	24,69 ± 0,65	24,63 ± 0,40	< 0,001
Grăsimi totale	51,63 ± 0,99	43,40 ± 1,15	42,33 ± 0,25	42,71 ± 0,29	55,25 ± 0,34	63,54 ± 1,00	46,35 ± 0,38	< 0,001
Smântână, frişcă	9,60 ± 0,60	2,94 ± 0,40	1,35 ± 0,31	0,75 ± 0,15	4,90 ± 0,40	11,94 ± 0,93	3,37 ± 0,30	< 0,001
Ulei	33,30 ± 0,17	30,19 ± 1,05	28,46 ± 0,23	25,97 ± 0,18	31,51 ± 0,09	32,80 ± 0,35	27,16 ± 0,26	< 0,001
Margarină	4,74 ± 0,11	4,93 ± 0,15	4,69 ± 0,14	4,62 ± 0,09	10,69 ± 0,30	9,27 ± 0,22	8,34 ± 0,19	< 0,001
Unt	0,53 ± 0,07	0,45 ± 0,05	0,35 ± 0,26	0,44 ± 0,08	0,69 ± 0,06	0,73 ± 0,06	1,19 ± 0,10	< 0,001
Fructe	80,64 ± 6,22	102,68 ± 6,29	90,32 ± 7,18	89,38 ± 9,91	94,92 ± 5,29	89,71 ± 7,77	85,66 ± 7,91	0,06
Legume	220,64 ± 5,45	247,34 ± 2,74	243,64 ± 3,88	291,12 ± 6,23	245,32 ± 7,58	224,63 ± 3,63	216,32 ± 8,82	< 0,001
Fructe şi legume	301,27 ± 8,34	350,02 ± 7,56	333,96 ± 5,89	380,50 ± 4,07	340,24 ± 3,81	343,85 ± 47,85	301,98 ± 9,62	0,002
Cereale	429,65 ± 0,73	432,29 ± 10,25	455,65 ± 0,96	506,99 ± 11,00	433,03 ± 3,58	434,35 ± 6,24	427,51 ± 2,47	< 0,001
Leguminoase	21,48 ± 0,57	18,09 ± 0,54	12,67 ± 0,60	15,00 ± 0,38	10,72 ± 0,17	14,59 ± 0,42	11,51 ± 0,21	< 0,001
Produse zaharoase	37,50 ± 1,56	39,82 ± 1,54	39,22 ± 0,41	38,26 ± 0,48	52,06 ± 1,51	50,04 ± 0,66	45,09 ± 0,50	< 0,001
Cafea, ceai, cacao	2,95 ± 0,30	3,52 ± 0,36	3,95 ± 0,39	2,77 ± 0,25	5,75 ± 0,34	4,83 ± 0,35	5,18 ± 0,25	< 0,001
Sucuri şi apă min.	39,42 ± 8,79	55,32 ± 4,90	52,67 ± 7,46	43,41 ± 4,74	102,45 ± 14,91	84,15 ± 16,37	101,94 ± 13,06	< 0,001
Vin	71,57 ± 9,02	63,61 ± 4,64	36,72 ± 2,46	82,73 ± 4,86	9,11 ± 0,16	17,91 ± 2,01	22,69 ± 1,23	< 0,001
Bere	16,77 ± 2,11	12,43 ± 1,62	20,04 ± 0,96	21,37 ± 1,84	22,08 ± 0,74	18,09 ± 2,85	23,81 ± 1,19	< 0,001
Distilate	4,76 ± 0,33	5,49 ± 0,76	15,17 ± 1,15	21,66 ± 1,44	5,23 ± 0,89	8,47 ± 0,27	6,54 ± 0,45	< 0,001

TABELUL III

Analiza relaţiei dintre variabilele alimentare şi incidenţa cancerului de colon

VARIABILĂ ALIMENTARĂ	Coeficient de corelaţie Pearson	Parametrii de regresie liniara				
		r^2	β	Limite CI 95% β		P
				Inf.	Sup.	
Carne (g)	0,01	0,0001	0,002	-0,220	0,224	0,981
Carne rosie (g)	0,64	0,40	0,215	-0,085	0,514	0,125
Preparate carne (g)	0,62	0,38	0,148	-0,067	0,363	0,138
Peste (g)	-0,53	0,28	-0,109	-0,311	0,093	0,225
Lapte (ml)	0,38	0,15	0,0136	-0,024	0,051	0,394
Branzeturi (g)	-0,50	0,25	-0,095	-0,282	0,092	0,248
Oua (g)	-0,46	0,21	-0,364	-1,181	0,452	0,303
Grasimi totale (g)	0,52	0,27	0,093	-0,083	0,268	0,232
Smantana, frisca (g)	0,31	0,10	0,104	-0,262	0,470	0,500
Ulei (g)	0,56	0,31	0,282	-0,196	0,761	0,190
Margarina (g)	0,73	0,54	0,400	-0,025	0,826	0,060
Unt (g)	0,27	0,07	1,369	-4,183	6,921	0,554
Fructe (g)	0,16	0,03	0,032	-0,199	0,264	0,733
Legume (g)	-0,47	0,22	-0,0260	-0,083	0,031	0,292
Fructe + legume (g)	-0,38	0,14	-0,0192	-0,074	0,035	0,407
Cereale (g)	-0,67	0,45	-0,033	-0,075	0,009	0,099
Leguminoase (g)	-0,37	0,14	-0,137	-0,533	0,260	0,416
Produse zaharoase (g)	0,72	0,52	0,172	-0,017	0,361	0,066
Cafea, ceai, cacao (g)	0,77	0,60	0,957	0,054	1,861	0,042
Sucuri si apa min. (ml)	0,66	0,43	0,0342	-0,011	0,080	0,110
Vin (ml)	-0,75	0,56	-0,037	-0,074	0,001	0,053
Bere (ml)	0,16	0,02	0,058	-0,363	0,478	0,738
Distilate (ml)	-0,68	0,46	-0,150	-0,337	0,036	0,093

re al consumului alimentar regiunile identificate ca având o incidenţă mai mare a cancerului este un consum mai crescut de carne roşie, mezeluri, margarină, unt, produse zaharoase, cafea, ceai, cacao, sucuri şi apă minerală şi un consum scăzut de peşte şi vin (tab. II).

Relaţia dintre incidenţa unor forme de cancer şi aportul alimentar

Relaţia dintre cancerul de colon şi alimentaţie s-a materializat în studiul nostru printr-un coeficient puternic de relaţie directă şi semnificativă statistic în cazul consumului de cafea, ceai şi cacao. Totuşi, se remarcă ca şi potenţial factor de risc în cancerul de colon şi consumul de margarină şi produse zaharoase, chiar dacă asocierile găsite au semnificaţie statistică la limită (tab. III).

Efectele protectoare se remarcă în cazul consumului de vin. Nu poate trece neobservată nici asocierea inversă, la limită dintre consumul de cereale şi cancerul de colon.

Cancerul de rect şi anus se asociază puternic cu consumul de carne roşie, preparate din carne, margarină, unt, produse zaharoase, cafea, ceai, cacao şi băuturi nealcoolice (tab. IV). Remarcăm că, faţă de cancerul de colon, sunt mult mai multe asocieri pozitive între acest tip de cancer şi alimente, de exemplu pentru carnea roşie, preparate din carne, unt şi băuturi nealcoolice. Totuşi, la o analiză atentă observăm că şi pentru cancerul de colon unele dintre

TABELUL IV

Analiza relaţiei dintre variabilele alimentare şi incidenţa cancerului de rect şi anus

VARIABILĂ ALIMENTARĂ	Coeficient de corelaţie Pearson	Parametrii de regresie liniara				
		r^2	β	Limite CI 95% β		P
				Inf.	Sup.	
Carne (g)	-0,05	0,003	-0,011	-0,240	0,218	0,908
Carne rosie (g)	0,76	0,58	0,265	0,003	0,526	0,048
Preparate carne (g)	0,87	0,75	0,213	0,071	0,355	0,012
Peste (g)	-0,80	0,64	-0,170	-0,318	-0,022	0,032
Lapte (ml)	0,45	0,20	0,016	-0,021	0,054	0,312
Branzeturi (g)	-0,90	0,81	-0,175	-0,274	-0,076	0,006
Oua (g)	0,04	0,002	0,037	-0,910	0,983	0,925
Grasimi totale (g)	0,60	0,36	0,110	-0,060	0,280	0,156
Smantana, frisca (g)	0,31	0,09	0,106	-0,272	0,484	0,502
Ulei (g)	0,25	0,06	0,130	-0,448	0,709	0,588
Margarina (g)	0,97	0,93	0,544	0,378	0,710	0,0004
Unt (g)	0,76	0,57	3,921	0,023	7,819	0,049
Fructe (g)	0,13	0,02	0,027	-0,213	0,267	0,786
Legume (g)	-0,46	0,21	-0,026	-0,085	0,033	0,305
Fructe + legume (g)	-0,27	0,07	-0,014	-0,073	0,044	0,559
Cereale (g)	-0,57	0,33	-0,029	-0,077	0,019	0,179
Leguminoase (g)	-0,59	0,35	-0,228	-0,582	0,126	0,159
Produse zaharoase (g)	0,93	0,86	0,228	0,123	0,333	0,003
Cafea, ceai, cacao (g)	0,94	0,88	1,203	0,705	1,702	0,002
Sucuri si apa min. (ml)	0,97	0,94	0,052	0,038	0,067	0,0003
Vin (ml)	-0,85	0,73	-0,043	-0,073	-0,013	0,015
Bere (ml)	0,40	0,16	0,153	-0,250	0,556	0,373
Distilate (ml)	-0,58	0,34	-0,132	-0,346	0,082	0,172

aceste alimente prezintă asocieri moderate.

Relaţii inverse apar între incidenţa cancerului de rect şi anus şi consumul de peşte, brânză şi de vin.

DISCUŢII

Prin designul său, studiul nostru prezintă unele avantaje faţă de cele internaţionale (8). Astfel, foloseşte rata incidenţei pentru a aprecia relaţia alimente-cancer, care oferă date solide privind cauzalitatea comparativ cu ratele de mortalitate sau prevalenţă (9). Datele despre alimentaţie au fost colectate la nivelul gospodăriilor individuale, ceea ce constituie o îmbunătăţire faţă de balanţa alimentară (10). Distribuţia etnică a populaţiei României nu prezintă variaţii mari iar colectarea datelor a fost standardizată, fapt aproape imposibil în cazul studiilor internaţionale. Astfel, colectarea datelor de consum s-a efectuat în aceeaşi limbă şi aceeaşi ţară, în cadrul aceleaşi anchete şi utilizând aceeaşi metodă. De asemenea, certificarea cazurilor noi de boală s-a făcut şi ea pe baza unui sistem naţional, iar singura regiune unde s-au constatat neconcordanţe (Bucureşti) a fost exclusă din analiză.

Pe lângă avantajele descrise, totuşi studiul are şi unele limite: fumatul nu a putut fi introdus ca variabilă în modelul statistic din lipsa datelor existente la nivelul regiunilor din România; ratele de incidenţă nu au fost standardizate (ajustate la vârstă), vârsta în sine fiind un factor de risc important în carcinogeneză. Totuşi, poate apărea o eroare potenţială şi dacă se analizează regresional ratele ajutate la vârstă cu valorile brute neajustate ale expunerii (consumul de alimente) (11). Din păcate, datele de consum alimentar la nivel regional există raportate numai per persoană şi, de aceea, analiza pe grupe de vârstă şi pe sexe a alimentaţiei nu a fost posibilă. Iată de ce am preferat să folosim în studiul nostru datele de incidenţă neajustate. Totuşi, s-a analizat distribuţia pe grupe de vârstă a populaţiei în regiunile comparate, observând că în zonele cu incidenţă mai mare a cancerului populaţia nu este mai îmbătrânită decât în celelalte.

În ceea ce priveşte relaţia alimente-cancer, implicarea aportului de grăsimi în etiologia cancerului este o ipoteză îndelung studiată. Studiul nostru a evidenţiat asocierea pozitivă a consumului de margarină cu cancerul de colon, rect şi anus. Se pare că acizii graşi trans, rezultaţi ca produşi secundari ai hidrogenării uleiurilor vegetale, sunt răspunzători de acest lucru (12). Totuşi, a fost găsită o asociere puternică şi a consumului de unt cu cancerul de rect.

În legătură cu consumul de carne roşie şi mezeluri, riscul mai mare de cancer în cazul unui consum mai crescut s-ar putea datora modului de preparare a lor (frigere, prăjire, procesul de afumare, adausul de sare, conservanţi şi a altor aditivi) (13). În schimb, peştele apare ca fiind protector în studiul nostru pentru cancerul de rect şi anus, efect probabil determinat de conţinutul în acizi graşi ω-3, care pot inhiba creşterea tumorilor (14,15).

Consumul de fructe şi legume este recunoscut pentru acţiunile sale protectoare faţă de cancere cu multiple localizări (16). În studiul nostru, lipsa unei corelaţii poate fi pusă pe seama unui consum relativ redus de fructe şi legume în ţara noastră.

Similar consumului de legume şi fructe, în literatura de specialitate, consumul de cereale a fost asociat tipic cu reducerea riscului de cancere digestive (17). Rezultatele noastre au evidenţiat o asociere inversă, la limită cu cancerul de colon. Protecţia oferită de cereale este posibil legată de consumul de fibre alimentare, dar trebuie să menţionăm faptul că nu au fost analizate în cadrul acestui grup de alimente cerealele integrale şi cele cu grad mare de extracţie, astfel încât explicaţia aportului de fibre să fie singura plauzibilă. Cu atât mai mult că în cazul leguminoaselor, bogate în fibre şi izoflavonoizi, nu am înregistrat o asociere protectoare.

În studiul nostru consumul crescut de brânzeturi apare ca fiind protector în cancerul de rect şi anus, probabil datorită conţinutului lor în calciu şi vitamina D (18).

Deosebit de interesante sunt asocierile găsite de studiul nostru între produsele zaharoase, cafeaua, ceaiul, cacao, băuturile nealcoolice şi cancere. În cazul produselor zaharoase, o explicaţie poate fi dată de ingredientele care intră în compoziţia acestor produse (margarină, îndulcitori sintetici, coloranţi, arome cu potenţial cancerigen). Aceeaşi explicaţie poate să pară plauzibilă şi în cazul consumului de băuturi răcoritoare. Pentru cafea, procesul de prăjire, adausul de zahăr sau pur şi simplu asocierea cu factori de risc cancerigen (de exemplu, asocierea consumului de cafea cu fumatul este un obicei frecvent) sau cu un anumit stil de viaţă ar putea fi răspunzători de acest risc.

Consumul de alcool a fost asociat cu cancerul de colon de către literatura de specialitate (19). În studiul nostru, s-a găsit un efect protector al consumului de vin, probabil datorită conţinutului său de antioxidanţi.

Trebuie subliniat faptul că studiile ecologice pot prezenta probleme de interpretare greşită a datelor analizate la nivel de grup ca indicatori ai relaţiei la nivel individual, de aceea ele emit ipoteze şi rezultatele lor trebuie să constituie premisele unor cercetări ulterioare privind relaţia dietă-carcinogeneză.

CONCLUZII

Asocierile găsite de acest studiu între factorii alimentari şi incidenţa cancerului pot reprezenta factori de risc reali sau diferenţe de expunere, pentru care dieta a constituit un marker (de exemplu încărcătura genetică a populaţiei sau factori legaţi de stilul de viaţă).

Studiul are meritul de a identifica zonele cu risc crescut de cancer din ţara noastră şi de a evidenţia modele de consum caracteristice acestor regiuni. De asemenea, reiese necesitatea reducerii aportului de margarină, carne roşie, mezeluri, cafea şi dulciuri şi se evidenţiază efectul benefic al vinului.

BIBLIOGRAFIE

1. Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer* 1975 ; 15 : 617-631.
2. Prentice RL, Sheppard L. Dietary fat and cancer ; Consistency of the epidemiologic data, and disease prevention that may follow from a practical reduction in fat consumption. *Cancer Causes Control* 1990 ; 1 : 81-97.
3. *** Institutul Naţional de Statistică. *Coordonate ale nivelului de trai în România ; Veniturile şi consumul populaţiei în anul 2001*. Bucureşti : Institutul Naţional de Statistică, 2002.
4. *** Institutul Naţional de Statistică. *Coordonate ale nivelului de trai în România ; Veniturile şi consumul populaţiei în anul 2002*. Bucureşti : Institutul Naţional de Statistică, 2003
5. *** Institutul Naţional de Statistică. *Coordonate ale nivelului de trai în România ; Veniturile şi consumul populaţiei în anul 2003*. Bucureşti : Institutul Naţional de Statistică, 2004
6. Ionuţ C. *Igiena alimentaţiei şi nutriţiei ; noţiuni practice*. Cluj Napoca : Ed. Medicală Univ I. Haţieganu, 2001.
7. Institutul de Igienă şi Sănătate Publică Bucureşti. *Studiul alimentaţiei şi al stării de nutriţie a populaţiei ; metodologia investigaţiei*. ISP Bucureşti, 1978.
8. Morgenstern H. Uses of ecologic analysis in epidemiologic research. *Am J Public Health* 1982 ; 72 : 1334-1336.
9. Beaglehole R, Bonita R, Kjellström. *Bazele epidemiologiei*.Bucureşti : Ed. All Education, 1997.
10. Willett WC, Stampfer MJ. Dietary fat and cancer : another view. *Cancer Causes Control* 1990 ; 1 : 103-109.
11. Rosenbaum PR, Rubin DB. Difficulties with regression analyses of age-adjusted rates. *Biometrics* 1984 ; 40 : 437–443.
12. Lourdes CC. Rolul nutriţiei în boală şi în sănătate. În : *Clinicile Medicale ale Americii de Nord. Nutriţie clinică, Urgenţe gastrointestinale, Tuberculoza*. Bucureşti : Ed. Medicală, 1995, 753-766
13. *** World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research. *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer : a Global Perspective*. Washington DC : American Institute for Cancer Research, 1997.
14. Cave Jr WT. Dietary n-3 (ù-3) polyunsaturated fatty acid effects on animal tumorigenesis. *Faseb J* 1991 ; 5 : 2160–2166.
15. Steinmetz KA, Potter JD. Food-group consumption and colon cancer in the Adelaide case-control study. II - meat, poultry, seafood, dairy foods, and eggs. *Int J Cancer* 1993 ; 53 : 730–737.
16. Steinmetz KA, Potter JD. Food-group consumption and colon cancer in the Adelaide case-control study. I - vegetables and fruit. *Int J Cancer* 1993 ; 53 : 711–719.
17. Jacobs Jr DR, Slavin J, Marquart L. Whole grain intake and cancer : a review of the literature. *Nutr Cancer* 1995 ; 24 : 221-229.
18. Martinez ME, Willett WC. Calcium, vitamin D, and colorectal cancer : a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarlers Prev* 1998 ; 7 : 163-168.
19. Hirayama T. Association between alcohol consumption and cancer of sigmoid colon : observations from a Japanese cohort study. *Lancet* 1989 ; 23 : 725-727.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ DENTARĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

INVESTIGATION OF DENTAL-PLAQUE FORMERS BIOFILMS BY OPTIC AND CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY AND MICROBIOLOGICAL TOOLS

Veronica Lazăr[1], Mariana-Carmen Balotescu Chifiriuc[1], Marcela Bucur[1], M. Burlibaşa[2], R. Sfeatcu[2], G. Stanciu[3], B. Savu[3], T. Trăistaru[2], Ramona Cernat[1], Ioana Suciu[2]
University of Bucharest
1 School of Biology
University of Medicine and Pharmacy "C. Davila" Bucureşti
2 School of Dentistry
Politechnical University of Bucharest
3 Center for Microscopy, Microanalysis and Information Processing

INVESTIGATION OF DENTAL PLAQUE FORMERS BIOFILMS BY OPTIC AND CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY AND MICROBIOLOGICAL TOOLS (Abstract) : The aim of the present study was to investigate the dental plaque formed on natural teeth surfaces by optic and confocal laser scanning microscopy (CLSM), to quantify the microbial density by viable cell counts, to identify the recovered microbial strains, the antibiotic susceptibility testing and their pathogenicity features (i.e. adherence and invasion capacity on HeLa cells, adherence on prostetic substrata used in oral medicine by original experimental models, production of extracellular enzymes and exotoxins). **Results** : The CLSM revealed a very complex and highly organized architecture of dental plaque. The direct optic examination of Gram-stained smears revealed a great diversity of morphological types (82.5% of cases), with comparative levels of microbial densities. 50% of recovered microbial strains exhibited ability to adhere to three different polimeric inert substrata used in oral medicine, but reduced adherence and invasion capacity of HeLa cells and scared expression of soluble enzymatic factors. **Key words**: DENTAL PLAQUE, EXPERIMENTAL BIOFILM, POLIMERIC INERT SUBSTRATA, CONFOCAL LASER SCANNING MICROSCOPY (CLSM)

Microbial adherence to different surfaces, natural (skin, intact or damaged mucosa, endothelial epithelia, teeth) or artificial (central venous, peritoneal, and urinary catheters, dental materials, cardiac valves, intrauterine contraceptive devices, contact lens, other implants) represents a precondition in the pathology of microbial infections, thus the prosthetic medical devices represent risk factors for the occurrence of chronic infections, difficult to treat, recurrent infections (1,2,3,4). Microbial adherence leads to biofilms' formation (microbial sessile communities) which are involved in 60 to 85% of infections that occur in developed countries, characterized by slow onset, middle intensity symptoms, chronic evolution and resistance to antibiotic treatment (4,5).

Dental plaque forms naturally on teeth and is of benefit to the host by helping to prevent colonization by exogenous species. The bacterial composition of plaque remains relatively stable despite regular exposure to minor environmental perturbations. This stability (microbial homeostasis) is due in part to a dynamic balance of both synergistic and antagonistic microbial interactions. However, homeostasis can break down, leading to shifts in the balance of the microbiota, thereby predisposing sites to disease (6,7). For example, the frequent exposure of plaque to low pH leads to inhibition of acid-sensitive species and the selection of organisms with a uric acid physiology, such as mutans streptococci and lactobacilli (8). Similarly, plaque accumulation around the gingival margin leads to a chronic inflammatory host response and an increased flow of gingival crevicular fluid. The subgingival microflora shifts from being mainly Gram-positive to being comprised of increased levels of obligatory anaerobic, asaccharolytic Gram-negative organisms. It is proposed that disease can be prevented or treated not only by targeting the putative pathogens but also by interfering with the processes that drive the breakdown in homeostasis. The dental plaque formation is a three steps process. Following the formation of a pellicle, pioneer micro-organisms (85% belonging to streptococci) will adhere to it, proliferate and form colonies. The final stage involves the coaggregation of filamentous organisms and spirochetes into a cohesive biofilm (8). Many products of the plaque bacteria reach the subepithelial tissue, causing inflammatory responses such as increased vascularity and leukocyte diapedesis. Both supragingival and subgingival plaque may form a hard, mineralized mass called calculus. The surface of calculus harbours bacteria, which may exacerbate the inflammatory responses. The initial colonization of bacteria in previously clean teeth or artificial surfaces inserted in mouth has been reported to occur at various periods of time. Different studies have shown that various substances may have an influence on early human dental plaque formation. The purpose of this study was to describe the pattern of *in vitro* microbial colonization of different supporting prosthetic materials used in oral medicine, by microbial strains isolated from normal dental plaque.

MATERIAL AND METHDOS

Specimen collection

Dental plaque specimens were collected from 46 patients from in situ teeth with initial root lesions in duplicates. One set was fixed on coverslips for SEM, and the second was suspended in phosphate buffered saline and preserved at 4°C. There were no specific selection criteria for the patients, however the age of the patients ranged from 6 to 90 years. The prelevation of dental plaque from patients under 6 years was not successful due to the total lack of cooperation. The subjects exhibited different oral hygiene index and followed different oral medicine treatments, either prosthetic, ortodontal and antimicrobial therapy, or dento-alveolar surgery and implantology.

Dental plaque bioburden assay

In the purpose of investigating the microbial charge of the specimens, 10 μl of sterile saline suspension of dental plaque specimens were seeded on nutrient agar and YPG (*Yeast Peptone Agar*) ; after 48 h of incubation at 37°C and respectively at 28°C, viable cell counts were performed in order to establish the Colony Forming Units number of bacterial and fungal strains. From the obtained cultures, Gram stained smears were executed in order to examine the microbial morphology.

Microbial strains identification

It was done based on cultural properties on blood agar and YPG media : colony type, haemolysis aspects pigmentation, morphology : Gram affinity ; morphological type and grouping mode ; biochemical features : using individual biochemical tests, API 20 E, 20 NE, API Staph, API 20 STREP, automatic system VITEK 1.

Virulence factors assay

The adherence and invasion capacity on HeLa cells was performed by Cravioto adapted method (9); HEp-2 cells were cultivated in MEM supplemented with 10% FCS (Gibco BRL) in 6 multi-well plastic plates (3 x 105 cells/well) and incubated at 37°C in 5% CO_2 atmosphere. The cell monolayer was infected with bacterial suspensions of î10^{10} CFU/ml obtained from 24 hours cultures on solid media, and incubated at 37°C in 5% CO_2 for 2 hours. After incubation, the plates were washed 3 times in PBS and Giemsa stained. The adhesion was microscopically examined and registered from qualitative (different adhesion patterns) and semiquantitative (+, ++, +++, ++++) points of view. Three different adhesion patterns were pointed out: localized adherence (microbial clusters), diffuse (individual adhesion) and aggregative (germs stratified as in brick-like layers adhered to cellular as well as to inert substrate).

For the adherence to abiotic surface (slime test), the strains were cultivated in tubes with nutrient broth and incubated at 37°C for 24 hours; the culture tubes were further emptied and stained with safranin alcoholic solution 1 % for 30 minutes, washed three times with distilled water and left at room temperature for 24 hours. The intensity of the red ring on the tube glass wall was noted with +, ++, +++, ++++ (10).

Adherence to prostetic substrata used in oral medicine was investigated by an original experimental model for *in vitro* biofilm development. In this purpose, variable size specimens of different materials used in dental medicine, i.e. alloys: Au-Pt, Au-Pd, Ag-Pd, Ni-Cr, Ni-Co) were placed in nutrient broth in 6/24 multi-well plates with microbial cultures and further incubated for many days at 37°C. After 24, 48 and 72 hours, viable cell counts were performed in order to appreciate the microbial growth in the presence of different materials comparatively with a control, planktonic culture. After the incubation period, the colonized samples were examined by SEM in order to appreciate the biofilm architecture, complexity and especially its depth (10,11).

Pore forming-toxins

CAMP-like factor: the tested strains were streaked at 8 mm distance from the beta-haemolysis producing *Staphylococcus aureus* (ATTC25923) strain on 5% sheep blood agar plates and incubated aerobically at 37°C for 24 hours. The synergistic clear haemolysis noticed at the junction of the two spots areas, often with an arrow-like appearance, indicated the production of CAMP-like factor (12).

Plate haemolysis: the strains were streaked on blood agar plates containing 5% (vol/vol) sheep blood in order to obtain isolated colonies. After incubation 24 hours at 37°C, the clear areas (total lysis of red blood cells) around the colonies were registered as positive reactions (12).

Kanagawa phenomenon: was tested on Wagatsuma's agar containing 5% rabbit blood. The tested strains were streaked in spots and incubated at 37°C for 24 hours. The areas of beta-haemolysis around the spots indicated positive reactions (12).

Lipase production: cultures were spotted on Tween 80 agar as a substrate at a final concentration of 1% and were incubated at 37°C until 7 days. An opaque (precipitation) zone around zone around the spot was registered as positive reaction(12).

Lecithinase production: cultures were spotted into 2.5% yolk agar and incubated at 37°C until 7 days. An opaque (precipitation) zone around the spot indicated the lecithinase production (12).

DN-ase production was studied on DNA medium. The strains were spotted and after incubation at 37°C for 24 hours, a drop of HCl 1N solution was added upon the spotted cultures, a clearing zone around the culture being interpreted as positive reaction (12).

Proteases

Caseinase activity was determined using 15% soluble casein agar as substrate. The strains were spotted and after incubation at 37 °C for 24 hours, a clearing zone surrounding the growth indicated casein proteolysis (12).

Gelatinase activity was determined on 3% gelatine agar. The strains were spotted and after incubation at 37 °C for 24 hours, a precipitation zone around the culture spots indicated gelatin proteolysis (12).

Glucidases

Mucinase production was determined using pig stomach mucine (final concentration of 1%) in brain heart agar with 2% NaCl. The strains were spotted and incubated until 48 hours at °C; the enzyme activity was noticed by the presence of a clear area around the culture spot. The clear area became more evident when some Lugol drops were poured upon (12).

Amylase production was tested on 10% starch supplemented agar medium. The strains were stubbed and incubated at 37°C for 24 h, starch hydrolysis was registered by the presence of a clear area around the culture spot (12).

Aesculin hydrolysis was tested on iron salts and 1% aesculin medium. After 24 hours incubation at 37°C, the positive strains (aesculin hydrolysis) were recognized by the black color (due to aesculetol-iron salts complexes forming) of the medium (12).

Confocal laser scanning microscopy

Samples were viewed in reflection mode by using a Leica TCS-SP CSLM, equipped with PL FLUOTAR (40X 0.75; 10X 0,3) and an Ar-ion laser tuned on 488 nm wavelength. A lateral resolution of about 200 nm was achieved. Leica software was used for surface topography and for statistical analysis. Confocal scanning laser microscopy (CSLM) is based on the principle of eliminating stray light from out-of-focus planes by means of the confocal apertures. Images are acquired by scanning the sample with a spot-sized light source and by recording the light reflected from the in-focus plane. Topography is made possible by recording a series of consecutive images on z-axis. When used to visualize the surface, CSLM requires no sample preparation. Even if CSLM has a resolution limited by light diffraction, it has the advantage to see very large surface areas of the samples. Structural information comparable with wavelength of the laser beam may be seen.

RESULTS AND DISCUSSION

Examination of dental plaque by CLSM

The CLSM revealed a very complex and highly organized architecture of dental plaque (dense masses of microorganisms embedded in a microbial mathrix, biofilm thickness from 50 to 133 micrometers, presence of columns and canalicular system) (fig. 1, 2, 3).

Dental plaque bioburden assay

The qualitative analysis of microorganisms in dental plaque by direct optic examination of Gram-stained smears showed a great diversity of morphological types in 82.5% of cases, with the constant presence

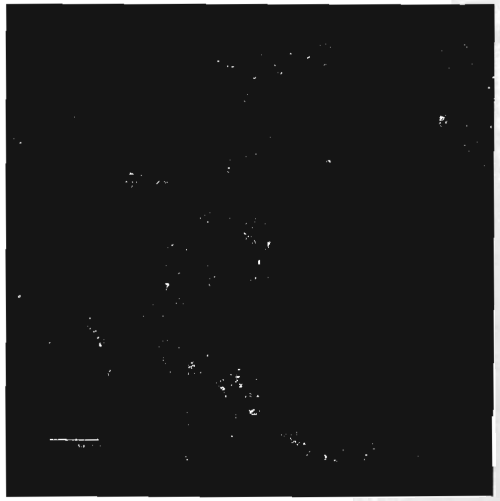


Fig. 1. CLSM image showing the complex architecture of dental plaque with canalicular structure (Obj 10 x, Zoom 3.2)

Fig. 2. CLSM image of a dental plaque showing large bacterial accumulation and dense pellicle (Obj 40 x, Zoom 3.2)

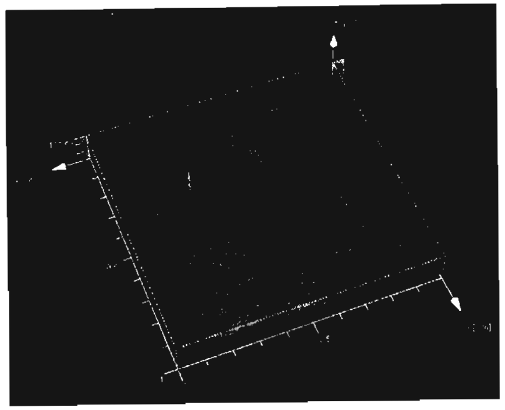


Fig. 3. Dental plaque topography obtained by CLSM, showing the average depth of dental biofilm (i.e. 132.53 μm, Ob. 10x)

of micellian hyphae, the rest of 17.5% being monomorphous (*Actinomycetae* or Gram-negative cocobacilli). Non-cultivable spirochetae were present in 12.5% of cases. The quantitative analysis of the dental plaque revealed comparative levels of microbial densities (from 2.4x10^2 to 6.8x10^3 CFU/mL). Despite the great diversity of the morphological types observed at direct microscopic examination of the specimens, a maximum of 3 different strains/specimen were recovered after cultivation in aerobic conditions, aspect that is accounting for the great value of direct examination in the investigation of the dental plaque. Microbial strains identification revealed the presence of yeasts belonging to *Candida* genus in 25% of cases, staphylococci in 60% of cases, streptococci in 50% of cases.

Virulence potential assay

Out of the total number of 50 microbial strains recovered from the 46 analyzed specimens, 50% exhibited ability to adhere to the inert substratum as quantified by slime test. In exchange, they showed reduced adherence and invasion capacity of HeLa cells, as well as scared expression of soluble enzymatic factors.

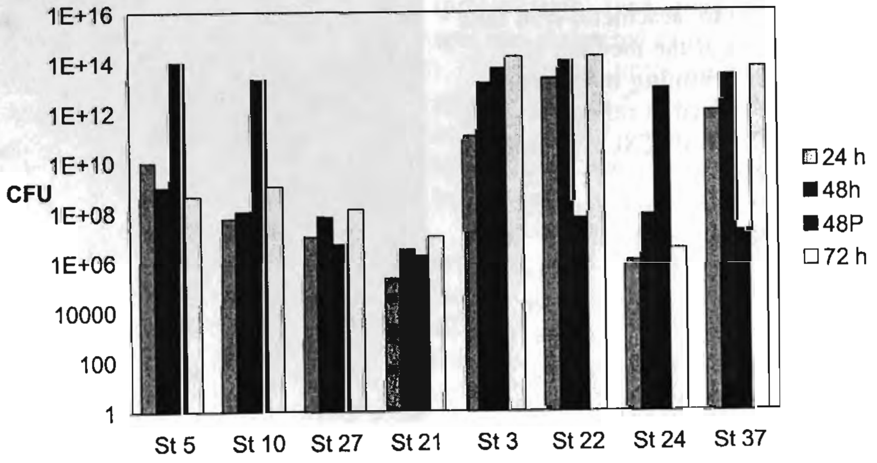


Fig. 4. Temporal dynamic of CFU of different microbial strains in the presence of Au-Pt alloys

In vitro colonization pattern of artificial oral materials by oral microorganisms

All tested specimens exhibited at 72 hours various areas covered by plaque, the amount of which varied with the different supporting substances. Concerning the gold and silver alloys (Au-Pt, Au-Pd, Ag-Pd) a general trend of increase in the number of microorganisms was noted for all the specimens after 24, 48 and 72 hours of plaque development. As concerning the temporal dynamic of viable cell counts in the presence of different oral prosthetic materials, it could be noticed that the behavior of different oral microorganisms is similar in the presence of different gold and silver alloys specimens (fig. 4, 5, 6). However, two major trends could be identified: 1) for some of the tested microbial strains, it could be noticed that after an initial growth in planktonic state, the CFU number is decreasing, proving their passage to adherent state. This trend was general in case of Au-Pd alloy and less frequent in case of Au-Pt alloy, this aspect proving that Au-Pt is more heavily colonized than Au-Pd and 2) some bacterial strains exhibited a constant preferential growth in suspension, attesting their reduced capacity to develop mature biofilms.

As concerning the bacterial behavior in the presence of different alloy specimens comparing with planktonic cultures, the comparative analyses of CFU values at 48 hours revealed also a dual situation, either the decrease of planktonic cells number, in the presence of adherence substrate, probably due to their passage from planktonic to adherent phase, or the increase of planktonic cells in the presence of the substrate, suggesting a stimulation of the growth rate of planktonic cells by the respective specimen.

The colonization *pattern* of gold alloys (Au-Pd, Au-Pt) showed that the bacterial biofilms appeared preferentially in pits and surface irregularities (fig. 7), while on flat surfaces bacteria formed a continuous layer (fig. 8).

The biofilm depth established by CLSM supported the viable cell counts results,

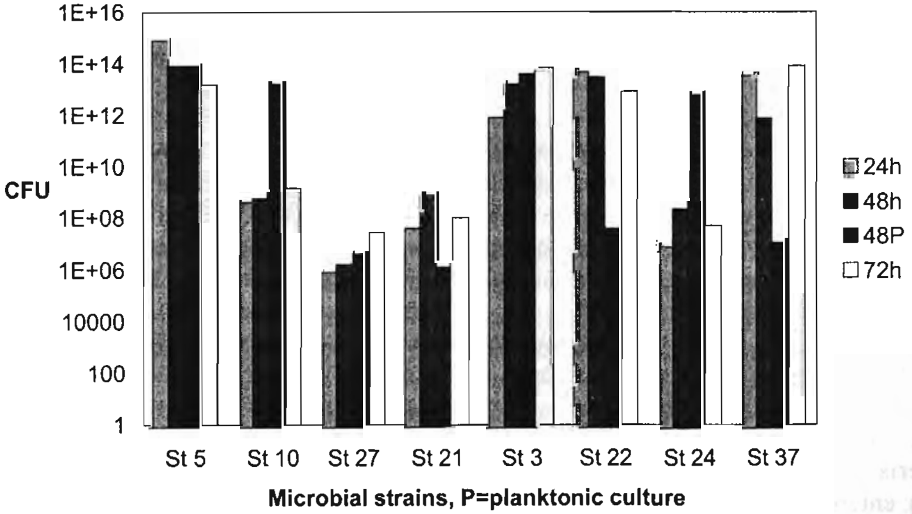


Fig. 5. Temporal dynamic of CFU of different microbial strains in the presence of Au-Pd alloys

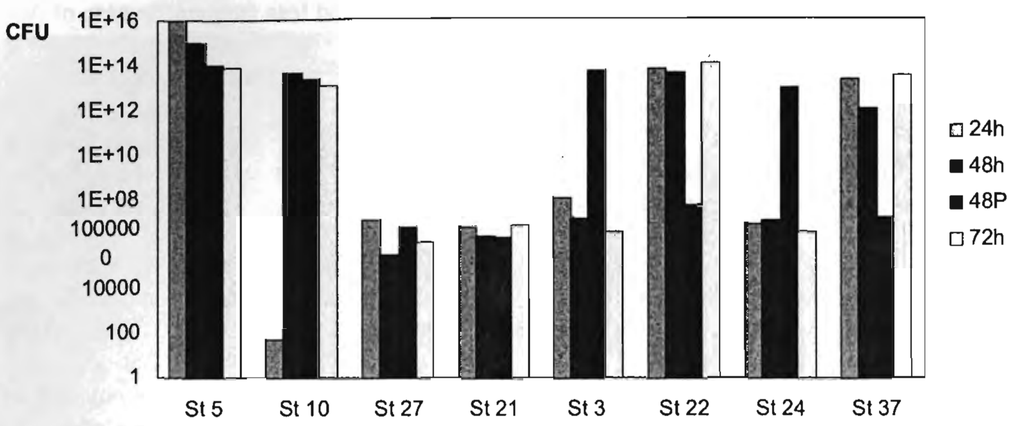


Fig. 6. Temporal dynamic of CFU of different microbial strains in the presence of Ag-Pd alloys

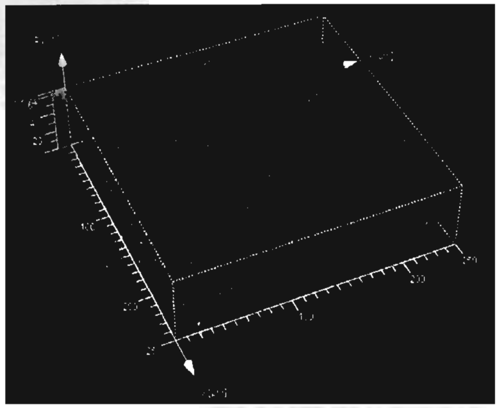


Fig. 7. CLSM image showing the topography of a monospecific biofilm developed on Au-Pd alloy specimen showing the preferential development of the biofilm on the irregularities determined by the Au-Pd material inscriptions (Ob 40x)

Fig. 8. CLSM topography of a monospecific biofilm showing the regular development of the biofilm in a continuous layer on the smooth surface of the Au-Pt material(Ob 10x, Zoom 6.74, Bar 80.0 μm)

suggesting that no preferential colonization of the different alloys was observed (fig. 9), and despite of the fact that the early biofilms on different substances seems to be related to the degree of their surface roughness, the biofilm was quantitatively similar, with some rare exceptions.

The Ni-Cr and Ni-Co alloys promoted the development of much more thicker biofilms than the gold alloys (~120 μm).

As concerning the temporal dynamic of bacterial biofilms, after 72 hours, the biofilms entered in a stationary phase, their depth being drastically affected, and in case of some specimens the microbial colonization was totally absent (fig. 10). These results could demonstrate the maturation and persistence of biofilms initiated by pioneer species is requiring the contribution of other microorganisms (like filamentous and spirochetes), attesting the importance of complex interactions between different microbial species in the establishment and the maintainance of dental plaque complex ecosystem.

The comparative study of viable cell counts for the same microbial strain grown in the presence of different prosthetic materials proved a strain specific behavior. Thus, in the case of two strains (St 6 and St 10), the lowest values of CFU were registered in the presence of Au-Pt, while the biggest levels of this number was observed in the presence of Ag-Pd alloy specimens. For one strains (St 22) the CFU values were constant both in time and in the presence of different alloys. For 5 strains (St 3, St 21, St 24, St 27, St 37), the lowest CFU values were registered at 72 hours for Ag-Pd alloy, probably due to the intrinsic antimicrobial activity of the Ag ions (fig. 11). These results are demonstrating that the usage of Au-Pt prosthetic materials are rising the lowest risk for the microbial colonization the initiation of dental plaque.

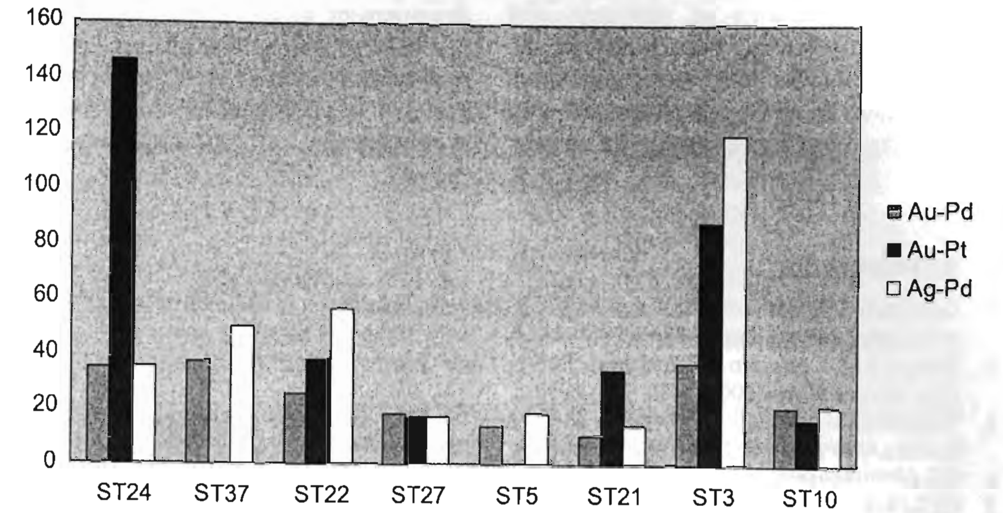


Fig. 9. Bacterial biofilms depth (expressed in micrometers) at 72 hours on different alloy specimens

Fig. 10. CLSM micrograph of Ag-Pd specimens colonized with bacteria after 72 hours, showing the absence of biofilms (Obj. 10)

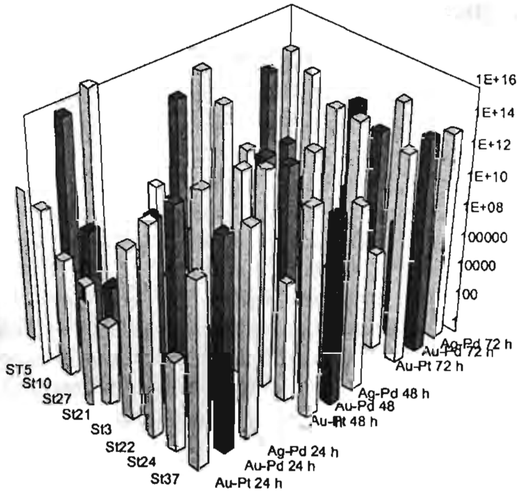


Fig. 11. Graphic representation of CFU dynamic of different strains in the presence of different materials

CONCLUSIONS

In conclusion, the *in vitro* pattern of microbial colonization of different oral prosthetic materials is determined by the surface structure and chemical composition of the material, but is also depending on the pioneer colonizing species. The *in vitro* development of the monospecific biofilms on different prosthetic materials used in oral medicine could be very useful in the selection of the materials with anti-adherent properties.

REFERENCES

1. Costerton JW, Steward PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999; 284: 1318–1322.
2. Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 167–193.
3. Francolini L, Donelli G, Stoodley P. Polymer designs to control biofilm growth on medical devices. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2003; 2 (2-4): 307–319.
4. Lazăr V. *Aderenţa microbiană,* Bucureşti: Ed. Română, 2003.
5. Carpentier B. Les biofilms (2). *Bull Soc Fr Microbiol* 1999; 14 (2): 105-111.
6. Marsch PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiol* 2003; 149: 279-294.
7. Davey ME, O'Toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64: 847-867.
8. Bernimoulin JP. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodontol* 2003; 30 (S5): Page.
9. Lazăr V, Bezirtzoglou E, Vezyraki P et al. Influence of *Lactobacillus casei* strains on the adhesion and invasion capacity of some opportunistic enterobacteria strains to HeLa cell line. *Microecol Therapy* 2002; 29: 163-172.
10. Lazăr V, Balotescu C, Cernat R, Bulai D, Niţu G, Ilina L. Phenotypic antibioticresistance of some enterobacterial strains adhered to an inert substratum. In vitro models for biofilm formation in liquid and solid media. *Clin Microbiol Inf* 2003; 9 (Suppl. 1): 227.
11. Lazăr V, Balotescu C, Bucur M., Banu O, Cernat R, Bulai D. Comparative study of antibiotic susceptibility levels of some clinical strains of *P. aeruginosa* as planktonic and adherent growing in biofilms cells. *Clin Microbiol Inf* 2005; 11 (Suppl. 3): 540.
12. Lazăr V, Balotescu C, Bulai D et al. Adherence ability to cellular and inert substrata and other virulence factors in opportunistic enterobacteria with different origins. *Clin Microbiol Inf* 2002; 8 (Suppl. 1): 104.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ DENTARĂ **ARTICOLE ORIGINALE**

EVALUAREA STATUSULUI EMOŢIONAL AL COPILULUI ÎN VEDEREA INTERVENŢIILOR DE CHIRURGIE DENTO-ALVEOLARĂ AMBULATORIE

L. Burlea, Maria Voroneanu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Disciplina de Anesteziologie, sedare şi urgenţă medicală în medicina dentară

CHILD EMOTIONAL PROFILE EVALUATION FOR AMBULATORY ORAL SURGERY (Abstract): Oral surgery interventions are for a child patient a stressfull moment, full of strangers, with large mental load and neuro-vegetative dystonia. **Material and method**: 236 patients with oral surgery problems treated in the Maxilo-facial Surgery Clinic in the 1.10.2006 - 1.01. 2008 were investigated for emotional items based on assessment scales. **Results**: Perception surgical act is associated by the small patients in 100% with painful phenomenon. Dental anxiety is associated mainly with a negativist behavior and its primary source is a pain or fear of pain, pain being an experience that every person - adult or child, living a more or less frequently, with greater or lesser intensity. Moreover, strong anxious patients are most sensitive to pain. **Key words**: PAEDIATRIC DENTAL ANXIETY, PAIN TOLERANCE, PAINFULL STIMUL, FOBIC STIMUL

Intervenţiile de chirurgie dento-alveolară reprezintă pentru pacientul copil un moment stresant, plin de necunoscute, cu mare încărcătură psihică şi distonie neurovegetativă. Percepţia actului chirurgical este asociată de către micii pacienţi în proporţie de 100% cu fenomenul dureros. Anxietatea stomatologică este asociată în principal cu un comportament negativist iar sursa sa primară o constituie durerea sau frica de durere, durerea fiind o experienţă pe care fiecare individ - adult sau copil - o trăieşte mai mult sau mai puţin frecvent, cu mai mare sau mai mică intensitate (1). Practica chirurgicală este legată de durere şi, deşi durerea este simptomul care aduce micul pacient în ambulatorul de chirurgie orală, tot ea îl îndepărtează de acesta. Durerea este definită ca o „experienţă senzorială şi emoţională dezagreabilă" iar sensibilitatea dureroasă generează un şir de manifestări individuale ce pot influenţa comportamentul copilului în funcţie de tipul, intensitatea şi durata sa. Percepţia dureroasă rezultă din procesarea individuală a informaţiei senzoriale, conştientizate, făcând obiectul atenţiei, interpretării şi memorizării fiecărui pacient (2,3). Unii autori susţin că durerea şi emoţia negativă se produc simultan datorită unor mecanisme biologice similare, alţi autori au corelat stresul cu anxietatea şi au considerat că acest fapt este responsabil pentru inducerea şi menţinerea durerii cronice musculo-scheletale prin creşterea tonicităţii. Poate "calea cea mai uşoară de a obţine o reacţie autonomă de tip negativ din partea pacientului copil este vizita la chirurgul oro-maxilo-facial" (3,4). În modalităţile de evaluare unidimensională a experienţei durerii se includ scalele cu descriptori verbali, scalele vizuale analoge, scalele numerice, scalele cu ancore comportamentale şi scalele imagistice. Dintre aceste tipuri de scale utilizate, nouă ni s-a părut că ne oferă măsuri simple şi eficiente în aprecierea intensităţii durerii, scala vizuală analogă, scala numerică, scorul anxietăţii dentare adaptate la pacientul copil, eficienţa maximă dovedind-o face scale (The Omher Scale). Pe baza combinaţiei acestor metode de evaluare clinică am conceput un scor propriu intitulat Scorul Predicţiei Durerii. Face Scale constă în imagini de feţe ce exprimă aspecte variate de suferinţă, fiecare având o valoare numerică într-o serie gradată de expresii. În funcţie de tipul de prezentare a imaginilor, copilul descrie durerea pe care o percepe. Exemplu: nivelul 0 - este o faţă neutră sau zâmbitoare (5,6). The Omher Scale constă dintr-o scală numerică în care se asociază 5 imagini de feţe de copii reprezentând grade ascendente de durere cu cifre de la 1-5 atribuite fiecărui grad de apreciere a durerii. A fost utilizată pentru măsurarea durerii la copii între 3-12 ani (5). Recomandăm ca, înainte de a se chestiona pacientul în ceea ce priveşte descrierea durerii, medicul să încerce să schiţeze profilul psihologic al acestuia. Numeroşi autori s-au arătat preocupaţi mai ales de evaluarea unidimensională a experienţei dureroase. Exteriorizarea durerii la nivel comportamental poate fi studiată de către un evaluator pe baza unei observaţii sistematice, conduse prin folosirea unor grile special elaborate. În funcţie de răspunsurile oferite, se acordă un anumit scor extrem de important în conducerea ulterioară a terapiei chirurgicale (6,7).

MATERIAL ŞI METODĂ

În scopul atingerii obiectivelor propuse spre evaluarea clinică a profilului emoţional al copilului care se adresează pentru intervenţii de chirurgie orală ambulatorie dar şi a componentelor acestuia, ne-am organizat cercetarea pe un eşantion uman reprezentat de 236 de pacienţi. Toţi cei 236 de pacienţi au fost selectaţi aleatoriu în raport cu adresabilitata lor în perioada 1.10.2006 - 1.01. 2008 pentru probleme de chirurgie orală în Clinica de Chirurgie Orală şi Maxilo-Facială - Ambulator din cadrul Facultăţii de Medicină Dentară a Universităţii de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi.

Cercetările noastre au urmărit ca pe baza datelor colectate cu ajutorul scalelor de apreciere adaptate de noi să identificăm următorii itemi :

1. Nivelul anxietăţii micului pacient - Scorul Anxietăţii Dentare
2. Substratul anxietăţii - Stimulii Fobici
3. Percepţia substratului dureros al anxietăţii dentare la pacientul copil - Scorul Percepţiei şi Anticipării Durerii.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În urma analizei bazei de date create pe lotul de 236 pacienţi, în funcţie de manoperele de chirurgie orală am identificat :

Repartiţia în raport cu **Scorul Anxietăţii Dentare** (fig. 1) :

- Calm (DAS = 1) - 17%
- Neliniştit (DAS= 2) - 21 %
- Moderat anxios (DAS = 3) - 29 %
- Puternic anxios (DAS = 4) - 33 %

Repartiţia în raport cu **Stimulii Fobici** (fig. 2):

- Ameninţarea durerii - 31 %
- Ameninţarea medicului - 28%
- Ameninţarea intervenţiei - 23%
- Ameninţarea injecţiei - 10%
- Ameninţarea instrumentarului - 8%

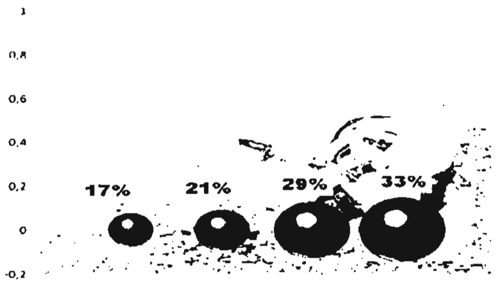


Fig. 1. Repartiţia în raport cu Scorul Anxietăţii Dentare

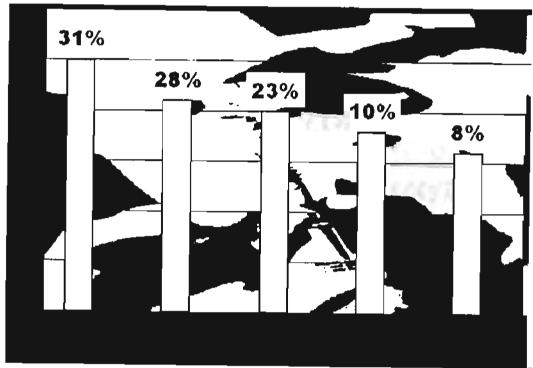


Fig. 2. Repartiţia în raport cu Stimulii Fobici

Repartiţia în raport cu **Scorul Percepţiei şi Anticipării Durerii** (fig. 3) :

- Scor 1- fără durere - 13%
- Scor 2- durere uşoară - 19,35 %
- Scor 3- durere moderată - 20%
- Scor 4- durere severă - 21,65%
- Scor 5- durere extremă - 26%

Arealul chirurgiei orale ca precursor al stresului emoţional negativ considerăm că se găseşte la limita dintre cele două domenii ale anxietăţii şi anume între anxietatea generalizată şi stimulii specifici. Unui scor ridicat al anxietăţii dentare îi corespunde un grad ridicat de anticipare şi percepţie a durerii declanşat de stimulii fobici cunoscuţi. La copii impresionabili, puternic anxioşi (DAS-3, DAS-4) substratul emoţiei negative este anticiparea durerii (Scor 4, 5) indusă de stimulii fobici de tipul: frica de durere, frica de medic, frica de injecţie.

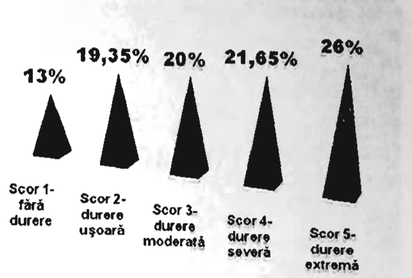


Fig. 3. Repartiţia în raport cu Scorul Percepţiei şi Anticipării Durerii

CONCLUZII

Scopul încercărilor clinice de evaluare a durerii la copii este de a se încerca unele posibilităţi de măsurare a ei, deşi durerea este considerată ca o experienţă prin excelenţă subiectivă. Ca idee generală intenţia este de evaluare a variabilelor cognitive ale durerii în raport cu statusul emoţional al pacientului. În urma cercetărilor noastre putem concluziona că stresul emoţional negativ constă din asocierea a trei elemente importante, aflate în strânsă interrelaţie şi anume: scorul de anxietate dentară, gradul de anticipare şi percepţie al durerii şi stimulii fobici care constituie implicit precursori fideli ai durerii.

BIBLIOGRAFIE

1. *** American Academy of Pediatric Dentistry: Guideline on behavior guidance for the pediatric dental patient. *Pediatr Dent* 2006: 27: 54-78.
2. Anderson RT. *The Puzzle of Pain*. 2nd ed. Gordon & Breach Arts International, 2004.
3. Versloot J, Veerkamp JS, Hoogstraten J. Assessment of pain by the child, dentist, and independent observers. *Pediatr Dent* 2004; 26: 445-449.
4. Singer AJ, Gulla J. Parents and practitioners are poor judges of young children's pain severity. *Acad Emerg Med* 2002; 9: 609-612.
5. Coulthard P, Rolfe S, Gazal G. Intraoperative local anaesthesia for paediatric postoperative oral surgery pain - a randomized controlled trial. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006; 35: 1114-1119.
6. Shields BJ, Cohen DM. Pediatric pain measurement using a visual analogue scale: a comparison of two teaching methods. *Clin Pediatr* 2003; 42: 227-234.
7. Maxim A, Bălan A, Păsăreanu M, Nica M. *Stomatologie comportamentală pediatrică*. Iaşi: Ed. Contact Internaţional, 1998.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

MEDICINĂ PREVENTIVĂ - LABORATOR ARTICOLE ORIGINALE

STUDIU EXPERIMENTAL PRIVIND IMPLICAREA VITAMINELOR ÎN DEZVOLTAREA SISTEMULUI DENTOMAXILAR

Iolanda Foia, L.L. Indrei
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Medicină Dentară
Disciplina de Igienă şi Igiena Alimentaţiei

EXPERIMENTAL STUDY REGARDING THE INVOLVEMENT OF VITAMINS IN THE DEVELOPMENT OF THE DENTOMAXILAR SYSTEM (Abstract): The severe deficiencies of maternal nutrition in vitamins, both before and during pregnancy, might induce severe alterations of developing teeth in embryos and very young rats. Thus, the morphologic analysis of embryonic preparations revealed blood vessels slightly widen out, without turgescence, increased cellular density with oedema of the conjunctive tissue, foamy aspect of cells from mesenchyma. The adult preparations presented decreased cellular density with important fibrosis and presence of foamy cells, lack of dentine formation with small and diffuse proteinic accumulations, rarefied blood vessels, lack of enamel formation. **Key words**: VITAMIN DEFICIENCY, MORFOGENESIS, DENTINE, ENAMEL

Formarea organului dentar reprezintă un lung şir de procese citochimico-histologice care se petrec în epiblastul stomodeal. Deficienţele nutriţionale severe şi chiar cele moderate, survenite în perioada etapelor critice de dezvoltare pot avea ca rezultat dezvoltarea deficitară a dintelui precum şi o predispoziţie crescută la carii .

În ceea ce priveşte vitaminele, cele mai studiate elemente şi condiţii care au afectat integritatea dintelui, solubilitatea smalţului, fluxul salivar şi compoziţia smalţului la subiecţii animali includ acidul ascorbic, vitamina A şi vitamina D. S-a demonstrat că deficitul acestor elemente afectează în egală măsură şi dentiţia umană.

Deşi vitaminele nu reprezintă materiale structurale şi nu au valoare energetică, sunt importante pentru organism datorită rolurilor funcţionale pe care le îndeplinesc. Majoritatea vitaminelor sunt constituenţi enzimatici (coenzime) ; în această calitate vitaminele participă aproape la toate reacţiile metabolice, atât la degradări cât şi la constituire de structuri tisulare.

MATERIAL ŞI METODĂ

Studiul experimental a fost iniţiat pe un număr total de 20 şobolance Wistar, cu greutăţi între 250 şi 300 g, împărţite la întâmplare în 2 loturi de câte 10 bucăţi (loturi relativ omogene după greutate). Şobolancele au fost crescute până în momentul experimentului în condiţii identice de laborator, primind apă *ad libitum* şi hrană normală standardizată, peletată (Fabrica de Nutreţuri Combinate Iaşi), dar cu compoziţie diferită pentru fiecare lot.

Astfel, lotul M a fost martor şi a primit o dietă identică cu cea anterioară experimentului (cu cantităţi foarte reduse de glucide), fiecare sac de 40 kg conţinând :

- porumb 25 kg ;
- şrot soia 10 kg ;
- şrot floarea soarelui 2 kg ;
- făină soia 2 kg ;

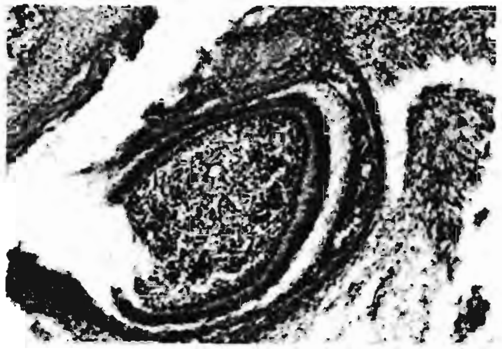


Fig. 1. Lotul martor, preparat embrionar. Stadiu de clopoţel (Coloraţie H-E x40)

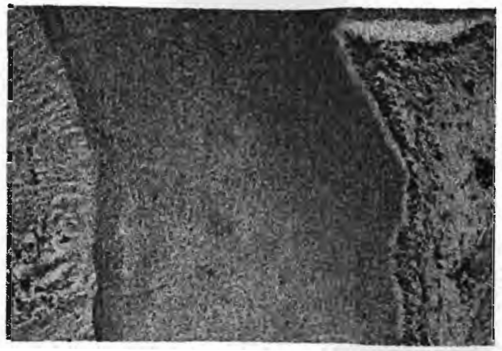


Fig. 2. Lotul martor, preparat adult (Coloraţie H-E, x20)

- fosfat şi calciu 0,4 kg ;
- lizină 0,1 kg ;
- metionină 0,1 kg ;
- Premix A5 (amestec de vitamine şi oligoelemente) 0,4 kg.

Lotul M a primit apă *ad libitum* pe toată durata experimentului.

Lotul I a primit o dietă fără supliment de vitamine, fiecare sac de 40 kg conţinând :

- porumb 25,3 kg ;
- şrot soia 10 kg ;
- şrot floarea soarelui 2 kg ;
- făină soia 2 kg ;
- fosfat şi calciu 0,4 kg ;
- lizină 0,1 kg ;
- metionină 0,1 kg ;
- Premix A3 (amestec de oligoelemente) 0,1 kg.

Lotul I a primit apă *ad libitum* pe toată durata experimentului.

La 17 zile după contactul cu masculii (considerat ca ziua inseminării) jumătate din femele au fost sacrificate. Embrionii obţinuţi au fost fixaţi în formaldehidă şi supuşi decalcificării cu acid formic. De la femelele sacrificate s-au recoltat mandibulele care, după fixare cu formaldehidă, au fost, de asemenea, supuse decalcificării cu acid formic.

Restul şobolancelor considerate gestante au fost hrănite cu dietele specifice fiecărui lot şi după fătare, până la înţărcarea totală a puilor. În plus, puii au fost hrăniţi cu dietele specifice lotului respectiv timp de 30 zile după înţărcarea totală (51 zile după naştere), după care au fost sacrificaţi, împreună cu femelele restante. S-au recoltat de asemenea mandibulele care, după fixare cu formaldehidă, au fost supuse decalcificării cu acid formic.

Preparatele decalcificate au fost incluse în parafină şi prelucrate pentru a obţine secţiuni seriate. Colorarea preparatelor s-a făcut atât uzual cu hematoxilin-eozină (H-E), cât şi cu van Gieson pentru evidenţierea ţesutului conjunctiv.

REZULTATE

Rezultatele obţinute pentru lotul I, cu dietă carenţată în vitamine au fost comparate cu cele ale lotului martor (M), care a primit pe toată durata experimentului o dietă obişnuită (fig. 1, 2).

Toate cele 10 femele ale lotului martor au fost gestante, iar numărul mediu de pui (şi embrioni) a fost de 9/femelă.

Lotul II a primit o dietă fără supliment de vitamine. Analiza preparatelor embrionare a relevat : vase puţin destinse fără hiperemie ; densitate celulară crescută cu edemaţiere a ţesutului conjunctiv din cupă (epiteliu reticulat) ; celule încărcate cu o secreţie mucoasă (balonizate) în zona mezenchimală (fig. 3).

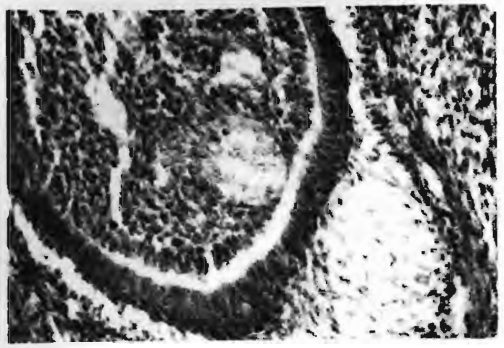


Fig. 3. Lotul I, preparat embrionar. Stadiu de clopoţel, detaliu cu vase puţin destinse, fără hiperemie, densitate celulară crescută cu edemaţiere a ţesutului conjunctiv din cupă (epiteliu reticulat) ; celule încărcate cu o secreţie mucoasă (balonizate) în zona mezenchimală (Coloraţie H-E x40)

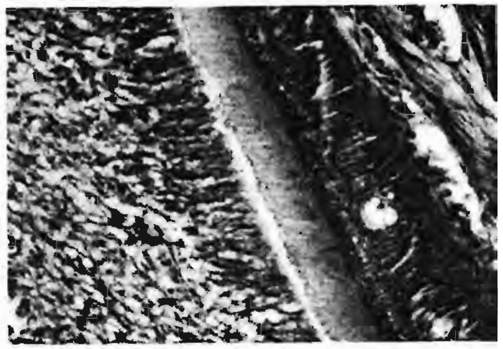


Fig. 4. Lotul I, preparat adult. Rarefacţie celulară, cu predominenţă a fibrelor conjunctive şi prezenţă de celule spumoase ; dentină rarefiată cu acumulări proteice difuze şi reduse ca volum ; acumulări punctiforme proteice ; rarefacţia vaselor ; acumulări proteice sub formă de depozite mari, de-a lungul canaliculelor dentinare (Coloraţie H-E x20)

Preparatele de la adulţi arată însă rarefacţie celulară, cu predominenţă a fibrelor conjunctive şi prezenţă de celule spumoase (asemănătoare acumulărilor lipidice apărute în hipoxie) ; dentină rarefiată cu acumulări proteice difuze şi reduse ca volum (posibilă alterare a sintezei proteice, asemănătoare dentinogenezei imperfecta la om) ; acumulări punctiforme proteice (resturi de matrice nerezorbabilă) ; rarefacţia vaselor ; acumulări proteice sub formă de depozite mari, eventual de-a lungul canaliculelor dentinare ; posibilă scleroză a dentinei (ţesut fibros necalcificat) ; dinte cu cement fără smalţ (fig. 4).

Toate cele 10 femele ale lotului au fost gestante, iar numărul de pui (şi embrioni) rezultaţi a fost în medie foarte aproape de 9/femelă, diferenţele faţă de lotul martor nefiind semnificative.

DISCUŢII

In mod caracteristic, defectele hipoplazice ale smalţului şi hipomineralizarea sunt trăsăturile de marcă ale sub sau supranutriţiei în perioada dezvoltării dintelui.

Carenţa vitaminei A a fost considerată un factor critic, deoarece însoţeşte în mod frecvent malnutriţia de tip protein/calorică şi se ştie că afectează dezvoltarea ţesutului epitelial, morfogeneza dintelui şi diferenţierea odontoblaştilor. Carenţa prelungită de vitamina A în timpul dezvoltării dinţilor are ca rezultat atrofierea smalţului, metaplazia ameloblastelor, îmbinarea deficitară şi calcifierea dentinei (1). Interferenţa cu calcificarea se exprimă clinic prin hipoplazia smalţului (2).

Carenţele de vitamina D, calciu şi fosfor afectează în mod semnificativ dezvoltarea dintelui şi rezistenţa la carii. S-a demonstrat că lipsa gravă a calciului şi fosforului poate avea ca rezultat hipomineralizarea dinţilor în dezvoltare (3). Lipsa trebuie să fie suficient de gravă pentru a reduce nivelele plasmatice de calciu şi fosfor, ceea ce sugerează că acest mecanism apare puţin probabil la oameni, datorită mecanismelor puternic homeostatice care mobilizează calciul din schelet pentru a menţine nivele normale de calciu plasmatic. Alţi autori sugerează ca hipovitaminoza vitaminei D ar putea fi mai importantă în cazul hipomineralizării datorită transportului insuficient de calciu către ţesuturile dentare în dezvoltare (4). Lipsa vitaminei D afectează, de asemenea, structura dintelui şi întârzie tiparele după care erupe. Astfel, copiii de vârstă mică cu rahitism prezintă erupţia întârziată a dinţilor definitivi, iar înlănţuirea firească a erupţiei este modificată. Incisivii permanenţi şi primii molari sunt afectaţi, de obicei, deoarece dezvoltarea lor coincide cu vârsta la care rahitismul este cel mai des intâlnit. Rahitismul rezistent la vitamina D are ca rezultat malformaţii mult mai grave şi mai frecvente ale dintelui decât în cazul rahitismului primar, malformaţii ce includ organe pulpare de dimensiuni mari, caracterizate prin „expuneri" ale pulpei dentare în timpul dezvoltării.

Carenţa vitaminei C afectează, de asemenea, dezvoltarea dintelui şi erupţia. Dinţii de lapte şi cei definitivi la copiii ce prezintă scorbut conţin mici hemoragii pulpare. La copiii de vârstă mai mare cărora le lipseşte vitamina C, pulpa dentară este supusă hiperemiei, edemelor, necrozei şi calcifierii haotice, iar dentina prezintă degenerare odontoblastică şi formare neregulată.

BIBLIOGRAFIE

1. Dreizen S. The mouth as an indicator of internal nutritional problems. *Pediatrician* 1989 ; 16 : 139-146.
2. Slavkin HC. Meeting the challenges of craniofacial-oral-dental birth defects. *J Am Dent Assoc* 1996 ; 127 : 681-682.
3. Leaver AG. Interrelationships of calcium, phosphorus and vitamin D in the bones and teeth of the rat. *Clin Orthop Relat Res* 1971 ; 8 : 90-107.
4. Bawden JW. Calcium transport during mineralization. *Anat Rec* 1989 ; 24 : 226-233.

NOUTĂŢI

PERSONALUL MEDICO-SANITAR : SURSĂ, VECTOR SAU VICTIMĂ A STAFILOCOCULUI AURIU REZISTENT LA METICILLINĂ ?

În momentul actual sunt divergenţe în ceea ce priveşte rolul personalului medico-sanitar în transmiterea *Staphylococcus aureus* rezistent la meticillină (MRSA). Autorii au realizat un studiu în intervalul ianuarie 1980 - martie 2006, pentru a determina rolul personalului medico-sanitar în transmiterea MRSA. S-au realizat 127 de investigaţii, care au inclus 33.318 membri ai personalului, dintre aceştia 4,6% având statut de purtător, respectiv 5,1% fiind diagnosticaţi cu infecţie clinică. Factorii de risc implicaţi au fost afecţiunile dermatologice cronice, o stare precară de igienă şi faptul că au lucrat în trecut în zone endemice cu MRSA. Personalul colonizat temporar sau permanent cu MRSA reprezintă o sursă importantă de agenţi patogeni. Transmiterea de la personalul medico-sanitar la pacienţi a fost confirmată în 63 (93%) din 68 de studii care au folosit genotiparea. Eradicarea MRSA a fost obţinută la 449 (88%) dintre cei 510 membri afectaţi. Starea de purtător a fost asociată frecvent cu infecţii infraclinice şi cu colonizarea altor zone decât cea nazală. Se impune deci o revizuire a modalităţilor de *screening* şi a politicilor de control a infecţiilor cu MRSA, respectiv o adaptare a normelor pentru personalul medico-sanitar din diferite sectoare de activitate. (Albrich WC, Harbarth S. Health-care workers : source, vector, or victim of MRSA ? *Lancet Inf Dis* 2008 ; 8 : 289-301).

F.D. Petrariu

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

CLINICAL AND PATHOLOGICAL ASPECTS OF EPITHELIAL HYPERPLASIA

Mihaela Gîrtan, Florica Stăniceanu, Sabina Zurac, Elisabeta Laba, Norina Forna
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Dental Medicine
Department of Removable Prosthesis

CLINICAL AND PATHOLOGICAL ASPECTS OF EPITHELIAL HYPERPLASIA (Abstract): In many cases, the oral health status indicates the general status of the body. 90% of the disorders of the body also manifest at the level of the oral cavity, which means that the dentist can draw the attention of a certain health problem. Diabetes mellitus is associated with a high prevalence of the lesions of the oral mucous, especially lichen planus, recurrent aphthous stomatitis or oral candidiasis. We present here a case of diabetes mellitus with hyperplasic lesion at the level of the inferior vestibule, extended to the right jugal mucosa. The lesion appeared pursuant to the application of removable prosthetics. The biopsy specimen was examined using normal and special staining (HE Hematoxiline - eosine, Van Gieson VG) and immunohistochemistry (IHC). In the HE stain, an epithelial hyperplasia was noticed as a result of the proliferation of the basal cells, associated with hyperkeratosis (parakeratosis or orthokeratosis). A moderated inflammatory limphoplasmocitary infiltrate, composed by lymphocytes and plasma cells, was present within the hyperplasic chorion. The immunohistochemical reactions revealed Ki-67 positive nuclei in the basal and suprabasal strata (indicating an increased proliferating activity); rare p53 positive nuclei in the basal stratum (indicating a suppressive action on the cell proliferation); CD3/CD8 positive cells in the inflammatory infiltrate (indicating an important number of T suppressor lymphocytes in the inflammatory infiltrate). In conclusion, diabetes mellitus is a disease which frequently determines major modifications at the level of the oral cavity. Interdisciplinary collaboration between the pathologist and the dentist is necessary for adequate diagnosis and successful treatment. **Key words**: DIABETES MELLITUS, EPITHELIAL HYPERPLASIA, REMOVABLE PROSTHETICS

The oral cavity is an important component of the body. The functional integrity of the oral cavity conditions the totality of the metabolic processes in the organism; in its turn, the body influences the oral cavity, its trouble being strongly marked by the systemic disorders.

The existence of multiple interdependences between the tissues of the oral cavity and the rest of the body justifies the integrative specific of the dental medicine as well as the necessity of a vast medical culture indispensable to the dentist.

Diabetes mellitus is a chronic disorder characterized by hyperglycemia which appears when the pancreas does not produce enough insulin or when the body cannot use efficiently enough the produced insulin.

Oral manifestations of diabetes mellitus are represented by candidose, lichen plan, gingivitis, dental caries, salivary disorders, xerostomy, burning sensation, taste changes, glossodynia and neurosensory disorders (1). The studies performed showed that the diabetes mellitus patients, and especially those with not controlled diabetes mellitus, present a significantly high prevalence of the periodontal diseases with a high degree of severity (2). The not controlled level of glycemia associated with smoking represents an important risk factor of the periodontal diseases (3). The patients suffering from diabetes mellitus present xerostomy and disorders of the salivary glands, changes that determine at their term increase of the oral microbial flora. Xerostomy, carious dental lesions, periodontal diseases and their complications determine the appearance of the partially extended edentulous areas. The chemical analysis of the salivary secretions there can be diagnosed systemic disorders, and, in the future, it is possible to be used for the evaluation of the glucose level or of the autoimmune markers specific to the diabetes mellitus, method that will eliminate the blood analysis for the diagnosis and monitoring of the patients with diabetes mellitus (4).

Diabetes mellitus is also associated with a high prevalence of the lesions of the oral mucous, especially lichen plan, recurrent aphthous stomatitis or oral candidiasis. The localization of these lesions imposes the interdisciplinary collaboration between the specialist and the dentist for the complex treatment, taking into consideration the immune changes determined by its complications (5).

CASE REPORT

We present here a case of diabetes mellitus that asked for multidisciplinary investigations and the clinical observation of the patient. The patient, V.R., 34-year

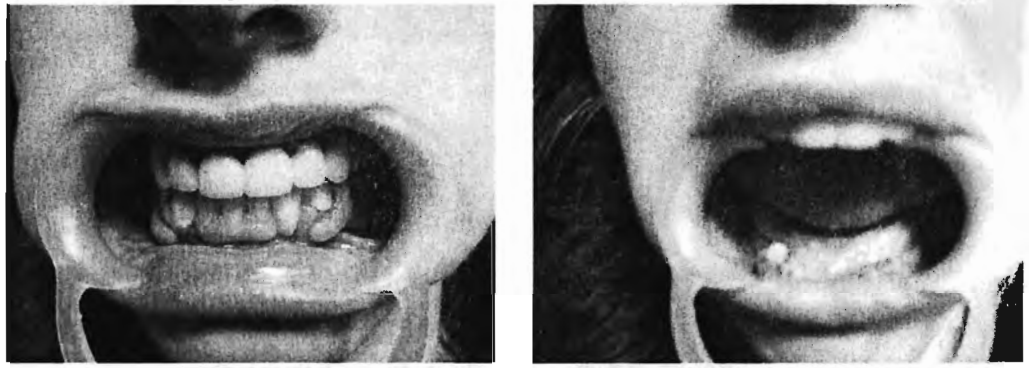


Fig. 1. Patient V.R. - Initial intraoral aspect. a - occlusion relationship; b - after the removal of the gnatoprosthetics devices

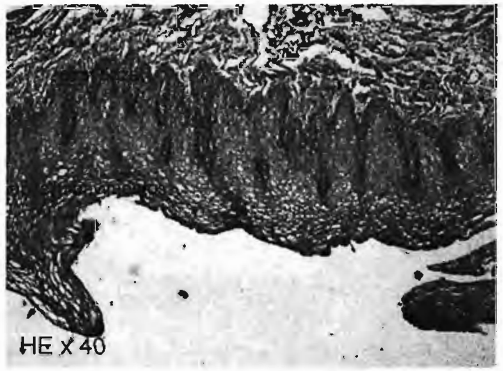


Fig. 2. Patient V.R.Basal cells hyperplasia; chronic inflammatory infiltrate in the chorion

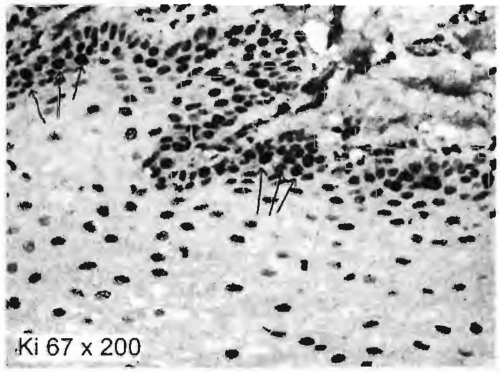


Fig. 3. Patient V.R. Numerous positive Ki-67 nuclei at the level of the basal and suprabasal strata

old, known with type 1 insulin diabetes for 11 years, was diagnosed with class I Kennedy edentation with a mandibular modification, treated approximately 1 year ago. The patient comes to the dental practice alarmed by the appearance of a hyperplasic lesion at the level of the inferior vestibule, extended to the right jugal mucosa , lesion appeared pursuant to removable prosthetics (fig. 1).

The clinical situation imposed the drawing of specimens for biopsy which was examined pathologically. The tissue fragments were fixed in formalin buffered solution 10% for 24 hours, dehydrated then by successive immersion in ethanol baths with an increasing concentration of 90^0 (24 h), 96^0 (24 h), 100^0 (24 h) and then acetone for 2 hours. Then, the fragment was clarified with toluene for 24 hours and impregnated with paraffin at 56^0 for 24 h.

The paraffin blocks were sectioned using a semiautomatic rotating microtome and there were performed sections of 3μ for the normal and special staining (HE Hematoxiline – eosine, Van Gieson VG) and of 2μ for immunohistochemistry (IHC). The sections for the normal and special staining were placed on simple blades and then dried in the thermostat for 2 h ; the sections for IHC were placed on glass blades treated beforehand with poly-L-lysine and then dried in the thermostat for 2 h. The following antibodies were used for IHC : anti-Ki-67, anti-p53, anti-CD3, anti-CD8, anti-CD138.

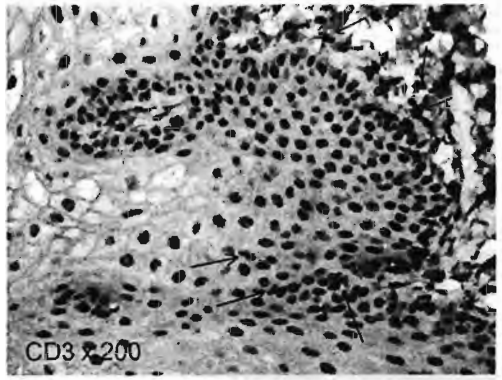


Fig. 4. Patient V R T lymphocytes with subepithelial and intraepithelial positions

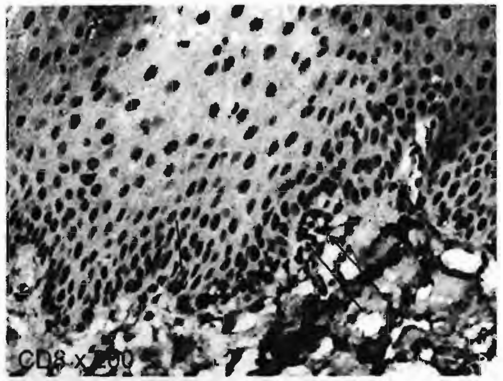


Fig. 5. Patient V.R. T suppressor lymphocytes (CD8 +), predominantly subepithelial, very rare intraepithelial

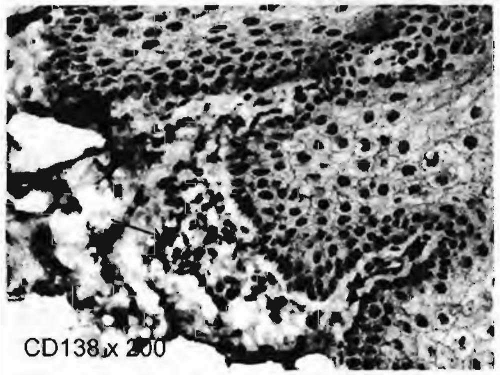


Fig. 6. Patient V R. Rare subepithelial plasma cells (CD138 +)

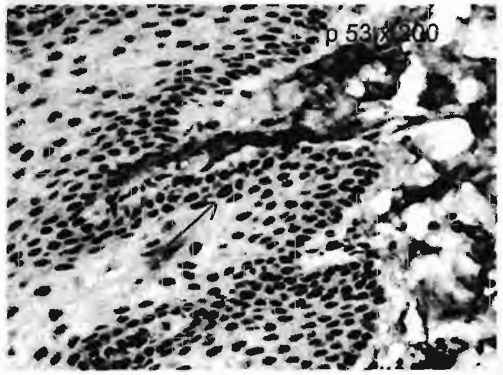


Fig. 7. Patient V. R. Very rare positive p53 cells, in basal stra

In the HE stain, an epithelial hyperplasia was noticed as a result of the proliferation of the basal cells, associated with hyperkeratosis (parakeratosis or orthokeratosis). The epithelium forms deep ridges. The hyperplasic chorion contained a moderated inflammatory infiltrate, composed by lymphocytes and plasma cells (fig. 2).

The immunohistochemical reactions revealed Ki-67 positive nuclei in the basal and suprabasal strata (fig. 3), indicating an increased proliferating activity and CD3/ CD8 positive cells in the inflammatory infiltrate (fig. 4,5), indicating an important number of T lymphocytes in the inflammatory infiltrate. There were noticed rare plasma cells, CD138 positive, disposed in a subepithelial position (fig. 6).

The immunohistochemical reaction for p53 was positive for very rarely nuclei in the basal stratum, indicated the suppressive action on the cell proliferation (fig. 7).

CONCLUSIONS

Diabetes mellitus is a disease frequently met which determines major modifications at the level of the oral cavity, influencing the health status of its tissues. The complications of this systemic disorder are represented by hyperplasia and gingival recessions.

Diabetes mellitus is frequently associated with gingivorrhagia and with chronic marginal periodontitis expressed by the accentuated alveolar bone resorption and the removable dental prosthetics instability, the alteration of the periodontium, cementosis, mobilization and eventually teeth expulsion.

Untreated diabetes mellitus is one of the main causes of adult edentation, while, the accentuated alveolar bone resorbtion and the removable dental prosthetics instability determine the appearance of the hyperplasic lesions.

REFERENCES

1. Ship JA. Diabetes and oral health – an overview. *JADA* 2003 ; 134 (suppl.1) : 4S-10S.
2. Tsai C, Hayes C, Taylos GW. Glycemic control of type 2 diabetes mellitus and severe periodontal disease in the US adult population. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002 ; 30 : 182-92.
3. Moore PA, Mongelluzzo MB et al. Type I diabetes mellitus and oral health : assessment of periodontal disease. *J. Periodontol* 1999 ; 70 : 409-417.
4. Todd A, Ng WY, Lee YS et al. Evidence of autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in oral fluid of type 1 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2002 ; 57 (3) : 171-177.
5. Kadir T, Pisiriciler R, Akyuz S et al. Mycologycal and cytological examination of oral candidal carriage in diabetic patients and non-diabetic control subjects : thorough analysis of local aetiologic and systemic factors. *J Oral Rehabil* 2002 ; 29 (5) : 452-457.

IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *FOENICULUM VULGARE* MILL.

Ana Clara Aprotosoaie[1], Monica Hăncianu[1], Antonia Poiată[2], Cristina Tuchiluş[2], A. Şpac[3], Oana Cioancă[1], Elvira Gille[4], Ursula Stănescu[1]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
School of Pharmacy
1. Department of Pharmacognosy
2. Department of Microbiology
3. Department of Analytical Chemistry and Instrumental Analysis
National Institute For Biological Sciences Research Development
4. „Stejarul" Biological Research Center Piatra Neamţ

IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *FOENICULUM VULGARE* MILL. (Abstract): In our study, four samples of volatile oil from *Foeniculum vulgare*, cultivated in different pedoclimatic conditions, were investigated for their antimicrobial activity and chemical composition. **Material and methods**: *Organisms. Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* were included in the report. *Antimicrobial susceptibility tests.* The comparative inhibitory activity of volatile oil samples with other antimicrobial agents was quantitative determined by minimum inhibitory concentration (MIC). *Oil samples* are the volatile oils extracted by steam distillation, from two ecological vegetative populations of *Foeniculum vulgare*. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) was used to determine the chemical composition of the essential oils. **Results**: All oil samples have a good activity against *E. coli* and *S. aureus* at low concentrations. Against *B. cereus* and *P. aeruginosa* these oil samples are less active. The oil samples were generally bactericidal at a concentration up to twofold or fourfold higher than the MIC value. Significantly synergic activity with amoxicillin or tetracycline showed all fennel samples against *E. coli*, *Sarcina lutea* and *B. subtilis* strains. Fennel oil samples have shown high activity against *Candida albicans*. **Conclusion**: No significant antimicrobial activity variations were observed for *Foeniculum vulgare* volatile oil samples obtained after two or three years cultivation period. The most important identified compounds in all samples of fennel volatile oils were trans-anethole, estragole, fenchone, limonene, α-pinene and γ-terpinene. **Key words**: FOENICULUM VULGARE, ESSENTIAL OIL, ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) is a perennial herb traditionally used as a flavouring agent and as herbal remedy, with carminative, stimulant, antispasmodic action (1). Anethole, the main active principle in fennel is used in pharmaceutical, cosmetic, food and beverages industries. According to the data literature, the fennel extracts possess antioxidant and antimicrobial activity (2,3).

In this study, the chemical composition and the antimicrobial properties of four samples of volatile oil from *Foeniculum vulgare*, cultivated in different pedo-climatic conditions, were determined.

EXPERIMENTAL METHODS

Plant materials and analysis of the essential oils. The vegetal materials were harvested during fruiting stage from two different submontaneous areas (Piatra Neamţ, Romania), in September 2004 and respectively during September 2005. The essential oils were obtained by hydrodistillation for 4 hours in a Clevenger-type apparatus from the fruits of *Foeniculum vulgare* (named F1, F2 - oils obtained from the material harvested in 2004, from plants in their second vegetative year and F3, F4 - the corresponding oils from same vegetal material in the third vegetative year, even if usually according to the Good Agriculture Practice (GAP) normative *Foeniculum vulgare* is cultivated only for two years).

Oil analysis. The crude volatile oil was submitted to analysis by gas chromatography and mass spectroscopy. An analytical system, consisting of HP 5890 Series II GC and HP 5971 MSD, was used. GC/MS analysis of the essential oil was performed on HP-5MS capillary column (25 m x 0.25 mm x 0.25 mm) coated with cross-linked methyl silicone gum. Carrier gas was helium with 1mL/min flow rate. Temperature program: 40°C held for 5 min, then heated up to 260°C at 10°C per min, and for 5 additional minutes at this temperature. The temperature of injector was 250°C and of MS interface was 280°C. Identification of each individual compound was made by comparison of their retention times with those of the authentic samples, in the same operating conditions, and by computer searching, matching mass spectral data with those held in the computer library. For these purposes Wiley 275 L library, operating with collection of 135.720 mass spectra, was used.

Microorganisms. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* were included in the study.

Antimicrobial susceptibility tests

Determination of minimum inhibitory concentration. The antimicrobial activity of volatile oil samples was quantitative determined by the broth dilution method with an inoculum of 10^6 CFU/mL. Double dilutions of each oil sample were tested. The tubes with diluted antimicrobial agent solution are inoculated with an equal volume of the bacterial suspension. The last tube resulting in complete inhibition of visible growth after 20 hours incubation at 37°C, represents the minimum inhibitory concentration (MIC). The minimum bactericidal concentration (MBC) was determined by transferring 0.1 mL from each of the tubes showing no growth on the MIC on the surface of agar plate. The subcultures are incubated 20 hours and the MBC read as the least concentration which produced = 99.9% killing of the bacteria.

Tests of combined antibacterial action

The synergy between fennel oil samples and other antimicrobials (amoxicillin-25 μg or tetracycline-30 μg) can be demonstrated using three discs, one for each agent alone and a third disc containing the same amount of the two agents together: oil plus the antimicrobial agent). The inhibition zone obtained by this third disc is then compared to those given by the single agent. A larger zone of growth inhibition indicates a synergic effect (4).

RESULTS

The data obtained in the quantitative antimicrobial activity are presented in table I and II.

All fennel oil sample have a good activity against *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 at low concentrations. Against *B. cereus* and *P. aeruginosa* these oil samples are less active. Antifungal activity was remarcable and similar with F2,

TABLE I
MIC values (mg/mL) of fennel oil samples

Oil sample	Microorganism test/ MIC values (mg/mL)				
	S. aureus ATCC 25923	*B. cereus*	*E. coli* ATCC 25922	*P. aeruginosa*	*Candida albicans*
F1	2.8	22	0.7	44	1.4
F2	1.4	22	1.4	44	0.18
F3	1.4	22	0.7	44	0.18
F4	2.8	22	0.7	44	0.18

TABLE II
MBC values (mg/mL) of fennel oil samples

Oil sample	Microorganism test/ MBC values (mg/mL)				
	S. aureus ATCC 25923	*B. cereus*	*E. coli* ATCC 25922	*P. aeruginosa*	*Candida albicans*
F1	5.6	44	1.4	87	2.8
F2	2.8	44	5.6	87	0.36
F3	2.8	44	1.4	87	0.36
F4	5.6	44	1.4	87	0.36

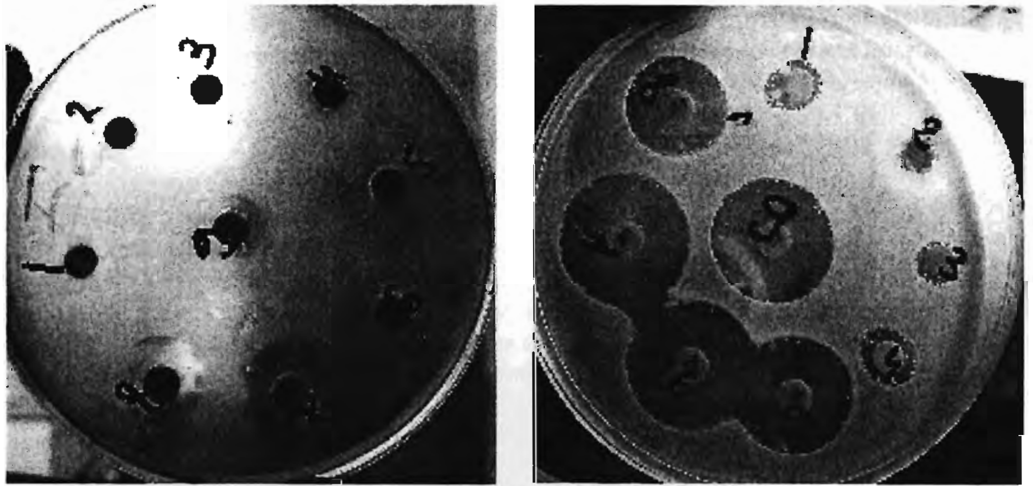

a b

Fig. 1. Synergy between fennel oil samples and amoxicillin against *E. coli* (a) and *B. subtilis* (b)

F3 and F4 oil samples and higher than F1 sample (Table I). The oil samples were generally bactericidal at a concentration up to twofold or fourfold higher than the MIC value (Table II).

Significantly synergic activity with amoxicillin or tetracycline showed all fennel samples against *E. coli*, *Sarcina lutea* and *B. subtilis* strains (fig. 1 a and b) (table III).

According to MIC values and to results obtained by agar difusion, no difference was observed among antibacterial activity with F1, F2 and F3, F4 oil samples.

The chemical composition of fennel essential oils is presented in table IV.

Major compounds found in all samples

TABLE III
The synergy between fennel oil samples and amoxicillin or tetracycline

Oil sample	*B. cereus*	*B. subtilis*	*S. aureus* ATCC 25923	*S. lutea* ATCC 9341	*E. coli* ATCC 25922
F1	9	8	17	24	11
F2	8	11	17	28	11
F3	8	9	10	26	11
F4	9	10	8	20	11
F1+Ax	11	22	18	36	12
F2+Ax	11	18	15	36	14.5
F3+Ax	8	23	16	34	15.5
F4+Ax	11	19	18	34	17.5
Ax*	10	21	17	24	11
F1	9	8	17	24	11
9		11	17	28	11
9		9	10	26	11
9		10	8	20	11
20		17	18	30	18
20		18	19	32	17
20		18	18	32	17
20		17	20	30	18
20		17	18	30	17

*Ax = amoxicillin -25 µg
**T = tetracycline- 30 µg

TABLE IV
Constituents identified in fennel essential oils

RT (min.)	Compound	Area (%)			
		F1	F2	F3	F4
6.58	α-pinene	3.12	3.34	0.64	0.80
6.80	camphene	0.51	0.53	-	-
7.20	sabinene	0.25	0.21	-	0.07
7.28	β-pinene	0.37	0.34	-	-
7.47	myrcene	0.99	0.92	0.15	-
7.75	α-phellandrene	0.52	0.43	0.94	-
8.25	limonene	3.88	3.51	1.67	1.09
8.71	γ-terpinene	1.28	1.15	0.19	0.33
9.01	β-phellandrene	-	-	1.10	-
9.08	trans-sabinene-hydrate	0.17	0.10	-	-
9.45	fenchone	17.54	17.21	4.70	8.91
10.20	camphor	0.30	0.50	1.10	-
10.72	estragole	22.25	20.40	7.21	13.33
11.08	carveol	-	-	5.56	-
13.00	trans-anethole	46.95	44.47	31.00	74.00
13.08	hydrocarveolacetate	-	-	7.75	-
13.58	trans-carveolacetate	-	-	2.53	-
14.00	anisyl-acetone	1.48	3.44	-	-
14.05	β-bourbonene	-	-	1.36	-
15.35	D-germacrene	0.25	0.76	-	-
15.90	α-cubebene	-	-	0.18	-

of volatile oils were trans-anethole, estragole, fenchone, limonene, α-pinene and γ-terpinene, but the concentration of these constituents varied greatly among the oils. Fennel essential oils are characterized by a higher content of aromatic compounds (trans-anethole, estragole) (70.68%-F1, 68.31%-F2 and 87.33%-F4), (except F3 sample-39.57%) and a lower content of monoterpenes (pinene, camphene, terpinene, camphene) for F1 (28.93%), F2 (28.24%) and F3 (26.33%) samples. For F4 sample, the content of monoterpenes was 39.57%.

CONCLUSIONS

The most important identified compounds in all samples of fennel volatile oils were trans-anethole, estragole, fenchone, limonene, α-pinene and γ-terpinene.

Fennel oil samples has shown high activity against *Candida albicans*. No significant antimicrobial activity variations were observed for *Foeniculum vulgare* volatile oil samples obtained after two or three years cultivation period.

We obtained synergic activity with amoxicillin or tetracycline for all fennel samples against *E. coli*, *Sarcina lutea* and *B. subtilis* strains.

REFERENCES

1. Philip RB. *Herbal-Drug Interactions and Adverse Effects*. New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2004.
2. Parejo I, Viladomat F, Bastida J et al. Comparison between the radical scavening activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 6882.
3. Kwon YS, Choi WG, Kim WJ et al. Antimicrobial constituents of *Foeniculum vulgare*. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 154.
4. Waterworth PM. Tests of combined antibacterial action. In: Reeves DS, Phillips I, Williams JD, Wise R editors. *Laboratory Methods in Antimicrobial Chemotherapy*. London: Churchill Livingstone, 1978, 41-49.

NOUTĂŢI

DITERPENE ANTIFUNGICE ŞI ALŢI CONSTITUENŢI DIN *HUGONIA CASTANEIFOLIA*

Hugonia castaneifolia creşte în regiunile tropicale din Africa continentală, Madagascar şi Mauritius. Din extractele hexanice şi diclormetanice obţinute din scoarţele recoltate de pe rădăcini, Baraza et al. au izolat o serie de diterpene: hugorosenona, 18-hidroxihugorosenona, 18-hidroxi-3-deoxihugorosenona, alături de alţi compuşi: 12-hidroxi-13-metilpodocarpa-8,11,13-trien-3-ona, hugononele A şi B, hugorosenol, hugonianena B, 2-hidroxihenpentacont-2-enal, tetracosil-(E)-ferulat, cariofilen-oxid. A fost testată activitatea acestor compuşi faţă de ciuperca *Cladosporium cucumericum* şi faţă de larvele de *Anopheles gambiae*. Dintre toţi compuşii testaţi, efecte antifungice şi larvicide au fost evidenţiate pentru hugorosenonă. 18-hidroxihugorosenona, 18-hidroxi-3-deoxihugorosenona, 12-hidroxi-13-metilpodocarpa-8,11,13-trien-3-ona s-au dovedit active numai faţă de *Cladosporium cucumericum* (Baraza LD, Joseph CC, Munissi JJE et al. Antifungal rosane diterpenes and other constituents of *Hugonia castaneifolia*. *Phytochemistry* 2008; 69: 200-205).

Anca Miron

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

FARMACIE **ARTICOLE ORIGINALE**

NEW METHOD FOR DETERMINATION OF DYDROGESTERONE IN HUMAN PLASMA FOR THERAPEUTIC DRUG MONITORING IN GYNECOLOGICAL DISORDERS

D. Mihu[1], Silvia Imre[2], L. Vlase[3], Marcela Achim[3], Magdalena Cuciureanu[4]
"I. Haţieganu" University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca
1. School of Medicine
2. School of Pharmacy
University of Medicine and Pharmacy Târgu-Mureş
3. School of Pharmacy
University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" Iaşi
4. School of Dentistry

NEW METHOD FOR DETERMINATION OF DYDROGESTERONE IN HUMAN PLASMA FOR THERAPEUTIC DRUG MONITORING IN GYNECOLOGICAL DISORDERS (Abstract): A new simple, sensitive and selective liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC/MS) method for quantification of dydrogesterone in human plasma was validated. **Material and method**: The analytes was eluted in 1.3 minutes on a reversed phase column (Zorbax SB-C18, 100 mm x 3.0 mm I.D., 3.5 μm) under isocratic conditions using a mobile phase of a 20:80 (v/v) mixture of ammonium acetate 1 mM and acetonitrile. The flow rate was 1 mL/min at the column temperature of 35°C. The detection of the analyte was in MS/MS mode using an atmospheric pressure chemical ionization source (APCI+, m/z 313 > m/z 295). The sample preparation was very simple and rapid and consisted in plasma protein precipitation from 0.2 mL plasma using 0.6 mL methanol. **Results**: Calibration curves were generated over the range of 5-150 ng/mL with values for coefficient of determination greater than 0.997 and by using a weighted (1/y) linear regression. The values of precision and accuracy were less than 12.5% and 7.5%, respectively, both for within- and between-run analysis. The mean recovery of the analyte was 99.8%. This is the first reported method for analysis dydrogesterone in human plasma that uses protein precipitation as sample processing procedure. The validated LC/MS method could be applied for determination of dydrogesterone in human plasma for therapeutic drug monitoring in gynecological disorders.

Key words: DYDROGESTERONE, HUMAN PLASMA, LC-MS

Dydrogesterone (DD), 17 - acetyl - 10, 13 - dimethyl - 1, 2, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17 - decahydrocyclopenta[a]phenanthren-3-one (fig. 1), called also *isopregnenone*, is a synthetic progestational agent used in a wide range of menstrual disorders that are thought to result from a lack of progesterone in the body: abdominal pain and bleeding during pregnancy, abdominal pain associated with menstrual periods, absence of menstrual periods when taking oestrogens, endometriosis, female infertility, irregular menstrual bleeding when taking oestrogens, irregular menstrual cycles, premenstrual syndrome, preventing overgrowth of the womb lining due to oestrogen in hormone replacement therapy (1).

Dydrogesterone is readily absorbed after oral administration. T_{max} values vary between 0.5 and 2.5 hours. Dydrogesterone has predictable pharmacokinetics. The single-dose kinetics are linear in the oral dose

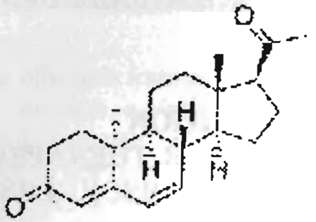


Fig. 1. Chemical structure of dydrogesterone

range of 5-20 mg. The pharmacokinetics does not change during repeated administration of up to 20 mg dydrogesterone once daily. Steady state is attained after 3 days of treatment. Dydrogesterone and its metabolites are excreted predominantly in urine.

Monitoring of plasma levels is important for dose adjustment to achieve optimal therapeutic effects and to avoid adverse drug reactions. LC/MS has been widely accepted as the main tool in the identification, structure characterization and quantitative analysis of drugs and its metabolites owing to its superior sensitivity, specificity and efficiency. The analysis is sometimes carried out in complex biological matrices and therefore efficient sample preparation and liquid chromatography are often required to achieve good specificity of the analysis. LC/MS grows in popularity, despite the equipment costs, and in the case of DD determination in plasma one article has been reported on the analysis of dydrogesterone in biological matrices by applying a flow-injection LCMS technique after solid-phase extraction of the analyte (2). In fact there is only a very few articles in which dydrogesterone chromatographic determination is studied, one being a micellar liquid chromatographic method applied for several steroids separation (3) and another a recently gas-chromatographic application (4).

In the present study, we attempted to develop a fast HPLC/MS/MS method able to quantify DD in human plasma after a simple protein precipitation for therapy monitoring in gynecological disorders.

MATERIAL AND METHODS

Reagents

Dydrogesterone (DD) was reference standard. Methanol and ammonium acetate were Merck products (Merck KgaA, Darmstadt, Germany). Distilled, deionised water was produced by a Direct Q-5 Millipore (Millipore SA, Molsheim, France) water system. The human blank plasma was supplied by the Local Bleeding Centre Cluj-Napoca, Romania.

Standard solutions

A stock solutions of DD with concentration of 1 mg/mL was prepared by dissolving appropriate quantities of reference substance (weighed on an Analytical Plus balance from Ohaus, USA) in 10 mL methanol. A working solution of 10 000 ng/mL was then obtained by diluting specific volume of stock solution with plasma and it was further diluted with plasma to 500 ng/mL. Then these were used to spike different volumes of plasma blank, providing finally seven plasma standards with the concentrations ranged between 5 and 150 ng/mL. Accuracy and precision of the method was verified using plasma standards with concentrations about 5, 10, 30 and 100 ng/mL DD. Quality control samples (QC) about 10 (QCA), 30 (QCB) and 100 (QCC) ng/mL analyte will be used during clinical samples analysis.

Chromatographic and mass spectrometry systems and conditions

The HPLC system was an 1100 series model (Agilent Technologies) consisted of a binary pump, an in-line degasser, an autosampler, a column thermostat, and an Ion Trap VL mass spectrometer detector (Brucker Daltonics GmbH, Germany). Chromatograms were processed using QuantAnalysis software. The detection of the analyte was in MS/MS mode using an atmospheric pressure chemical ionization source (APCI+, m/z 313 > m/z 295). Other apparatus parameters: heater 400°C, dry temperature 350°C, nebulizer 60 psi, dry gas 5 L/min.

Chromatographic separation was performed at 35°C on a Zorbax SB-C18 100 x 3 mm, 3.5 mm column (Agilent Technologies), protected by an in-line filter.

Mobile phase

The mobile phase consisted of a mixture of ammonium acetate 1 mM and acetonitrile (20:80 v/v), each component being degassed, before elution, for 10 minutes in an Elma Transsonic 700/H (Singen, Germany) ultrasonic bath. The pump delivered the mobile phase at 1 ml/min.

Sample preparation

Standard and test plasma samples were prepared as follows in order to be chromatographically analyzed. In an Eppendorf tube, to 0.2 mL plasma, 0.6 mL methanol was added. The tube was vortex-mixed for 10 seconds and then centrifuged for 6 minutes at 5000 rpm. A volume of 150 mL supernatant was transferred in an autosampler vial and 30 mL were injected into the HPLC system.

Analytical performance of the method

As a first step of method validation (5,6, 7), specificity was verified using six different plasma blanks obtained from healthy human volunteers who had not previously taken any medication.

The concentration of analyte was determined automatically by the instrument data system using the external standard method. Calibration was performed using singlicate calibration standards on five different occasions. The calibration curve model was

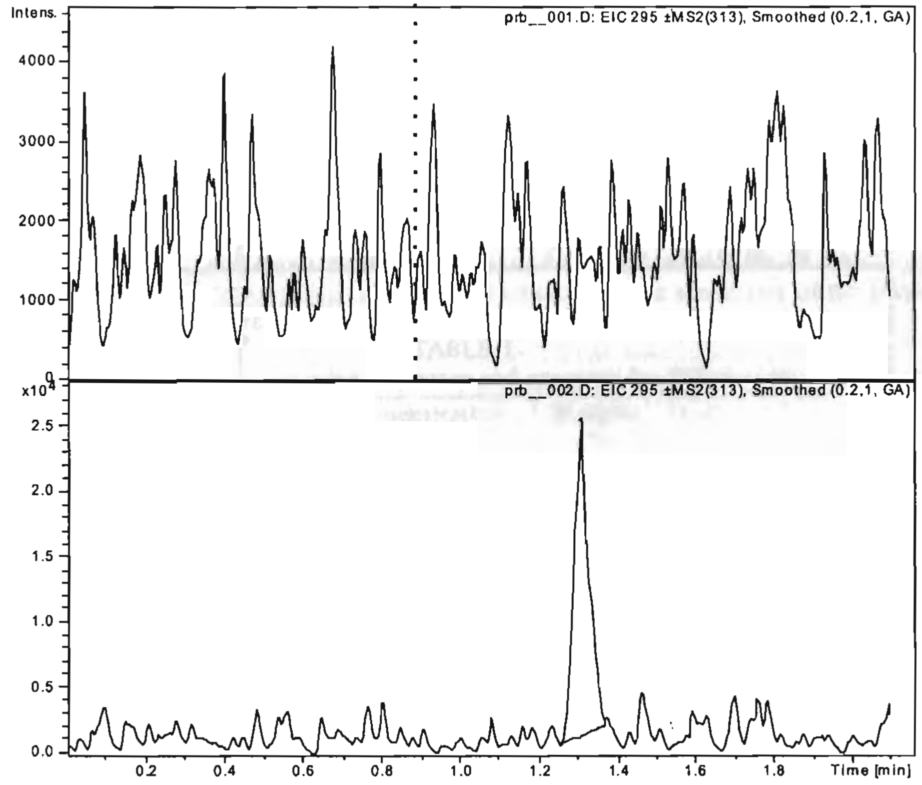


Fig. 2. Chromatograms of a blank plasma (upper image) and a plasma standard sample of 5 ng/mL DD (lower image)

determined by the least squares analysis. The applied calibration model was a linear one: y = ax + b, 1/y weight, where y – peak area and x – concentration. Distribution of the residuals (% difference of the back-calculated concentration from the nominal concentration) was investigated. The calibration model was accepted, if the residuals were within ±20% at the lower limit of quantification (LLOQ) and within ±15% at all other calibration levels and at least 2/3 of the standards met this criterion, including highest and lowest calibration levels.

The lower limit of quantification was established as the lowest calibration standard with an accuracy and precision less than 20%.

The within- and between-run precision (expressed as coefficient of variation, CV%) and accuracy (expressed as relative difference between obtained and theoretical concentration, Bias%) of the assay procedure were determined by analysis on the same day of five different samples at each of the lower (10 ng/mL), medium (30 ng/mL), and higher (100 ng/mL) levels of the considered concentration range and one different sample of each on five different occasions, respectively.

The relative recoveries at each of the previously three levels of concentration and limit of quantification were measured by comparing the response of the treated plasma standards with the response of standards in solution with the same concentration of analyte as the prepared plasma sample.

The post-preparative stability (PPS) in the autosampler of the analyte in human plasma was investigated at lower (10 ng/mL) and higher concentration (100 ng/mL) for 6 hours, the expected longest storage times of the samples in autosampler before injection. The requirement for stable analyte was that the difference between mean concentrations of the tested samples in various conditions and nominal concentrations had to be in ±15% range.

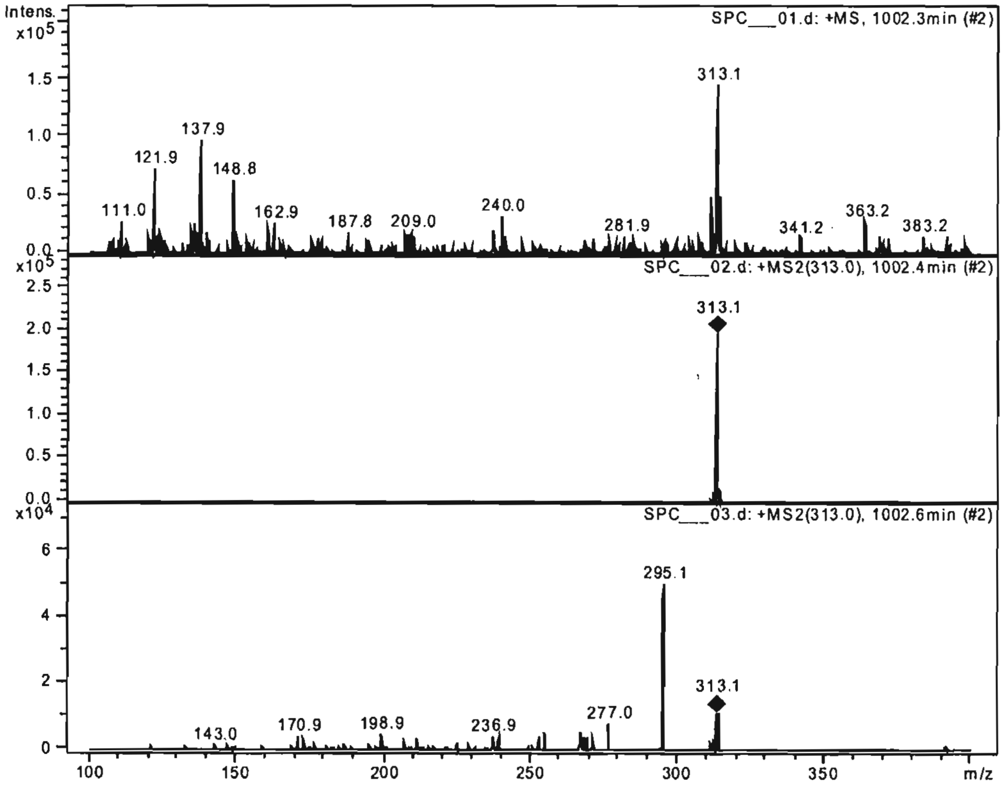


Fig. 3. Mass spectra of dydrogesterone: a. (upper image) full-scan spectrum, b. (middle image) MS/MS non-reactiv spectrum (isolation), c. (lower image) MS/MS reactive spectrum (fragmentation)

RESULTS AND DISCUSSIONS

No significant interference at the retention times of DD (1.3 min) (fig. 2) was observed in different plasma blank samples chromatograms due to the specificity of selected signals (fig. 3).

Two ionization sources were tested, APCI and ESI, respectively. Finally, the APCI ionization source was used due to the absence of ionizable groups on dydrogesterone molecule that determined a lower signal when electrospray ionization mode was applied.

Different organic solvents were used for mobile phase: acetonitrile and methanol. At the same retention time and signal intensity for the analyte (obtained by using 70% acetonitrile with 30% ammonium acetate 1 mM or 80% methanol with 20% ammonium acetate 1 mM), higher noise was observed in the case of acetonitrile and for this reason methanol was selected for further investigation.

The applied calibration curve model proved to be accurate over the concentration range 5 - 150 ng/mL DD, with a determination coefficient greater than 0.997. The mean calibration curve, y = a (±SD) x + b (±SD) with SD standard deviation, was: y = 12368 (±668) x + 1752 (±5956), N = 7 calibration points, n = 5 determinations for each calibration point. The residuals had no tendency of variation with concentration and were between ±13% values.

The method had within- and between-run accuracy and precision (tables I and II), in agreement to international regulations regarding bioanalytical methods validation (5,6,7). The lower limit of quantification was established at 5 ng/mL DD, with accuracy and precision less than 20%.

The recovery was consistent and reproducible (table I and II).

The analyte proved its stability after sample preparation for at least six hours, the Bias% of found concentration being less than 15%, the maximum accepted value for method's accuracy.

In comparison with previously published chromatographic - mass spectrometry methods (2), the sensitivity of the proposed

TABLE I

Within-run precision, accuracy and recovery for DD (n = 5)

Nominal concentration ng/mL	Measured concentration ng/mL (± D.S.)		Precision %	Accuracy %	Recovery % (± D.S.)	
5.00	5.06	0.47	9.3	1.2	98.7	8.8
10.00	9.70	0.36	3.7	-3.0	94.1	9.7
30.00	31.17	1.76	5.7	3.9	105.2	7.2
100.00	95.86	3.77	3.9	-4.1	102.9	2.5

TABLE II

Between-run precision, accuracy and recovery for DD (n = 5)

Nominal concentration ng/mL	Measured concentration ng/mL (± D.S.)		Precision %	Accuracy %	Recovery % (± D.S.)	
5.00	5.37	0.67	12.5	7.5	101.4	4.1
10.00	10.55	0.95	9.0	5.5	95.9	7.6
30.00	30.26	1.96	6.5	0.9	103.0	8.6
100.00	102.32	6.58	6.4	2.3	96.9	4.4

method (LLOQ of 5 ng/mL DD in plasma) is better. But the main advantage, except the short run-time of 2 minutes, is the sample preparation by protein precipitation and besides its simplicity, that sample treatment allows obtaining a very good recovery of analyte.

CONCLUSIONS

The proposed method provides accuracy and precision for quantitative determination of dydrogesterone in human plasma for therapeutic drug monitoring in gynecological disorders. The simple sample preparation by protein precipitation and selected signals for monitoring allow a specific and efficient analysis of a large number of plasma samples, making the method more productive and thus more cost effective. As far as we are aware this is the first chromatographic method for dydrogesterone quantification in human plasma after protein precipitation.

REFERENCES

1. *** Martindale Complete Drug Reference - Dydrogesterone. MICROMEDEX_ Healthcare Series, 2006.
2. Abdel-Hamid ME, Sharaf LH, Kombian SB, Diejomaoh FME. Determination of dydrogesterone in human plasma by tandem mass spectrometry: application to therapeutic drug monitoring of dydrogesterone in gynecological disorders. *Chromatographia* 2006; 64 (5/6): 287-292.
3. Torres-Cartas S, Villanueva-Camañas RM, García-Alvarez-Coque MC. Modelling and optimization of the separation of steroids eluted with a micellar mobile phase of sodium dodecyl sulphate containing acetonitrile. *Anal Chim Acta* 1996; 333 (1-2): 31-40.
4. Hadef Y, Kaloustian J, Portugal H, Nicolay A. Multivariate optimization of a derivatisation procedure for the simultaneous determination of nine anabolic steroids by gas chromatography coupled with mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2008; 1190 (1-2): 278-285.
5. *** The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. *Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence*. CPMP/EWP/QWP/1401/98.
6. http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/qwp/140198enfin.pdf
7. http://www.fda.gov/cder/guidance/5356fnl.pdf. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. *Guidance for Industry. Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products. General Considerations*. March 2003.
8. http://www.fda.gov/cder/guidance/4252fnl.pdf. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. *Guidance for Industry. Bioanalytical Method Validation*. May 2001.

CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *MELISSA OFFICINALIS* L. FROM ROMANIA

Monica Hăncianu[1], Ana Clara Aprotosoaie[1], Elvira Gille[2], Antonia Poiată[3], Cristina Tuchiluş[3], A. Şpac[4], Ursula Stănescu[1]
University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" Iaşi
School of Pharmacy
1. Department of Pharmacognosy
3. Department of Microbiology
4. Department of Analytical Chemistry and Instrumental Analysis
National Institute For Biological Sciences Research Development
2. Biological Research Center "Stejarul" Piatra Neamţ

CHEMICAL COMPOSITION AND *IN VITRO* ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *MELISSA OFFICINALIS* L. FROM ROMANIA (Abstract): *Melissa officinalis* L. (lemon balm) is used in traditional medicine to treat insomnia, anxiety, gastric conditions, psychiatric conditions, migraines, hypertension and bronchial conditions. Natural essential oils (mixtures of fragrant chemical) obtained from various parts of plants are efficient active antimicrobial agents. The widespread use of antimicrobial agents selects resistant bacterial strains, which seriously compromise the effectiveness of antibiotic treatment.The use of herbal medicines might be a precautionary measure to prevent the development of lack of susceptibility to synthetic antibiotics that is associated with therapeutic failures. **Material and methods**: In this work, the chemical composition and the antimicrobial properties of essential oil from romanian *Melissa officinalis* were determined.Therefore, the purpose of this study was to evaluate *in vitro* antimicrobial activity of lemon balm oil by comparison with lavender essential oil, which is also utilised for its antimicrobial properties in folk medicine. **Results**: The most important identified compounds, well known for their antimicrobial effects were citral (neral and geranial) (16.10%), citronellal (3.76%) and trans-caryophyllene (3.57%).The lemon balm oil sample exhibited a higher degree antibacterial activity than did *Lavandula* oil against Gram-positive strains. The both oil samples tested has shown a high activity against *Candida albicans*. The gram-negative bacteria were not affected by the lemon balm oil. **Key words**: *MELISSA OFFICINALIS*, ESSENTIAL OIL, ANTIMICROBIAL ACTIVITY

Melissa officinalis L. (lemon balm) is used in traditional medicine to treat insomnia, anxiety, gastric conditions, psychiatric conditions, migraines, hypertension and bronchial conditions (1). Natural essential oils (mixtures of fragrant chemical) obtained from various parts of plants are efficient active antimicrobial agents. In traditional medicine the different parts of plants (flowers, fruits, seeds, herb, leaves, wood, roots) are used as treatments for infectious diseases. The widespread use of antimicrobial agents selects resistant bacterial strains, which seriously compromise the effectiveness of antibiotic treatment.

The use of herbal medicines might be a precautionary measure to prevent the development of lack of susceptibility to synthetic antibiotics that is associated with therapeutic failures.

In this work, the chemical composition and the antimicrobial properties of essential oil from romanian *Melissa officinalis* were determined.Therefore, the purpose of this study was to evaluate *in vitro* antimicrobial activity of lemon balm oil by comparison with lavender essential oil, which is also utilised for its antimicrobial properties in folk medicine.

MATERIAL AND METHODS

Plant materials and analysis of the essential oils. The plant material was identified and deposited in the herbarium of Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania. Aerial parts *of Melissa officinalis* were collected in the flowering stage from Piatra Neamţ (Easter region of Romania) in June 2004.

Oil extraction. Lemon balm oil was obtained by steam distillation of the dried leaves for 3 h (2). The isolated oil has a relative density of 0.800.

Oil analysis.The crude volatile oil was submitted to analysis by gas chromatography and mass spectroscopy. An analytical system, consisting of HP 5890 Series II GC and HP 5971 MSD, was used. GC/MS analysis of the essential oil was performed on HP-5MS capillary column (25 m x 0.25 mm x 0.25 mm) coated with cross-linked methyl silicone gum. Carrier gas was helium with 1mL/min flow rate. Temperature program: 40°C held for 5 min, then heated up to 260°C at 10°C per min, and for 5 additional minutes at this temperature. The temperature of injector was 250°C and of MS interface was 280°C. Identification of each individual compound was made by comparison of their retention times with those of the authentic samples, in the same operating conditions, and by computer searching, matching mass spectral data with those held in the computer library. For these purposes Wiley 275 L library, operating with collection of 135.720 mass spectra, was used.

Microorganisms. Staphylococcus aureus *ATCC 25923 (American Type Culture Collection)*, Staphylococcus epidermidis, Sarcina lutea *ATCC 9341*, Bacillus cereus *ATCC 14579*, Escherichia coli *ATCC 25922*, Klebsiella *spp. and* Candida albicans *ATCC 10231 were included in the study.*

Antimicrobial activity. The qualitative antibacterial assay of oil was determined by agar diffusion method. The minimum inhibitory concentration was determined by broth dilution method. The Ampicillin was used as a positive control. The activity of *Melissa* oil was compared with those of *Lavandula* oil. These oils were obtained in similar conditions from vegetal material harvested from the same aria. The qualitative antibacterial determination of the oils was carried by the diffusion method in Mueller-Hinton agar (3). The oil samples (10 μL) were pipetted into the wells of 6.0 mm diameter. The diameters of inhibition zones of bacteria growth were measured after 24 h of incubation at 37^0C.

Minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum bactericidal concentrations (MBCs) were evaluated by the macrodilution method in broth. In order to achieve a stable emulsion of the oil in broth the addition of the emulsifier Tween 80 is added at concentrations of 0.5% to minimize adverse effect on bacteria (4,5). Double dilutions in broth of each oil sample (ranging from 0.09 mg/mL to 100 mg/mL) were tested against each strain. The tubes with serially diluted samples of oil were inoculated with a volume of 0.05 mL bacterial inoculum containing approximately 10^6CFU. The last tube resulting in complete inhibition of visible growth of the tested bacteria after 20 h incubation at 37^0C and 30^0C for the yeast, represent the minimum inhibitory concentration. The minimum bactericidal concentration was determined by transferring 0.1 mL from each of the tubes showing no growth on the surface of agar plate. The plates were incubated overnight and MBCs read as the lowest oil concentration from witch growth of < 10 colonies resulted (=99,9% kill of the original inoculum).

TABLE I

Main components identified in lemon balm essential oil

RT (min.)	Compound	Area (%)
8.30	dl-limonene	0.64
9.36	L-fenchone	0.58
10.34	citronellal	3.76
11.15	1-cyclopropyl-4-methoxybenzene	0.62
11.63	2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methyl)	7.78
11.78	Z-citral (neral)	3.79
12.22	E-citral (geranial)	12.31
12.34	trans-anethole	18.32
12.53	benzene, 1-methoxy-4-(2-propenyl) (estragole)	7.50
14.59	trans-caryophyllene	3.57
15.42	germacrene D	0.48
16.83	(-)-caryophyllene oxide	2.81
17.48	cyclohexanol, 2-methyl-3-(1-methyl)	1.19
19.59	2-dodecanone	0.41
22.68	bicyclo[[7.1.0]dec-2-ene	2.26
23.26	2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene	1.20
25.86	tetracosane	3.41
26.90	eicosane	1.57
30.85	n-heptacosane	7.03

Legend: RT= retention time

TABLE II

Susceptibility to *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* oils of Gram positive and Gram negative bacteria

Sample	Microorganism test/ diameter of the inhibition zone (mm)						
	S. aureus **ATCC 25923**	***S. epidermidis***	***S. lutea*** **ATCC 9341**	***B. cereus*** **ATCC 14579**	***E. coli*** **ATCC 25922**	***Klebsiella*** **spp.**	***Candida albicans*** **ATCC 10231**
Melissa officinalis	14	13	15	21	0	0	30
Lavandula angustifolia	10	9	10	25	0	0	27
Ampicillin 25 μg/disc	24	28	34	22	25	15	-

RESULTS AND DISCUSSION

The oil composition is reported in table I. Citral (neral and geranial) (16.10%), trans-anethole (18.32%), 2-cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methyl) (7.78%), estragole (7.50%), n-heptacosane (7.03%) trans-caryophyllene (3.57%), citronellal (3.76%) and tetracosane (3.41%) were the major components determined. Lemon balm volatile oil was characterized by a higher content of monoterpenes (mainly oxygenated monoterpenes-citral, citronellal) (32.31%) and aromatic compounds (unusual for *Melissa*) (trans-anethole, estragole) (26.44%). We also noticed presence of sesquiterpenes (trans-caryophyllene, caryophyllene oxide) (6.86%) and aliphatic components (eicosane, tetracosane, heptacosane) (13.62%).

The data obtained in the qualitative antimicrobial activity determination are presented in Table II.

These results obtained by our testing show that the antimicrobial activity of *Melissa*

TABLE III

MIC values (mg/mL) of lemon balm oil samples

Sample	**Microorganism test/ MIC values (µg/ml)**				
	S. aureus **ATCC 25923**	***B. cereus*** **ATCC 14579**	***E. coli*** **ATCC 25922**	***P. aeruginosa***	***Candida albicans*** **ATCC 10231**
ssa officinalis	0.6	0.3	40	40	0.6
icillin (µg/mL)	0.25	0.5	2	32	NT

Legend: NT= not tested

TABLE IV

MBC values (µg/mL) of lemon balm oil samples

Sample	**Microorganism test/ MIC values (mg/ml)**				
	S. aureus **ATCC 25923**	***B. cereus*** **ATCC 14579**	***E. coli*** **ATCC 25922**	***P. aeruginosa***	***Candida albicans***
Melissa officinalis	1.2	0.6	80	80	1.2
Ampicillin (µg/mL)	0.5	1	4	64	NT

Legend: NT= not tested

officinalis against gram-positive bacteria was generally superior to the lavender oil sample.

Both the gram-negative strains (*E. coli* and *Klebsiella* spp.) are not susceptible by the tested oils. Also, the oil of lemon balm is more active against *C. albicans*.

With regard to comparative antimicrobial activity of both the lemon balm oil and the lavender oil, our study confirmed the data previously published by Larrondo (1995). Larrondo reported that *Melissa officinalis* exhibited a higher degree of antimicrobial activity against bacteria by comparison with lavender action (6).

Data on the susceptibility of bacterial strains to *Melissa officinalis* L. oil given as MIC and MBC values are presented in Table III and Table IV. The lemon balm showed the lowest MICs against Gram-positive species, with values of 0.3 mg/mL to 0.6 mg/mL. These result suggest that the *Melissa* oil may be a good therapeutic agent against gram-positive bacteria.

The MICs and MBCs for *E. coli* and *P. aeruginosa* were similar (40 mg/mL, respectively 80 mg/mL).

The *Melissa* oil sample exhibited antibacterial activity against *S. aureus* and *B. cereus* comparable to the clove oil as describet in literature (7). The clove oil showed a good activity against the bacteria above mentionated, with MIC values of 0.5 mg/mL.

CONCLUSIONS

The most important identified compounds, well known for their antimicrobial effects were citral (neral and geranial) (16.10%), citronellal (3.76%) and trans-caryophyllene (3.57%). The lemon balm oil sample exhibited a higher degree antibacterial activity than did *Lavandula* oil against Gram-positive strains.

The both oil samples tested has shown a high activity against *Candida albicans*.

The gram-negative bacteria were not affected by the lemon balm oil.

REFERENCES

1. Skidmore-Roth L. *Handbook herbs and natural supplements*. 2nd ed. Mosby, 2004, 591-594.
2. *** *European Pharmacopoeia*. 4th ed. Strasbourg: Council of Europe, France, 2002.

3. Brown D, Blowers R. Disc methods of sensitivity testing and other semiquantitative methods. In DS, Phillips I, Williams JD, Wise R editors. *Laboratory Methods in Antimicrobial Chemotherapy*. London: Churchill Livingstone, 1978, 8-23.
4. Carson CF, Cookson BD, Farrelly HD, Riley TV. Susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J Antimicrob Chemother* 1995; 35: 421-424.
5. Griffin SG, Markham JL, Leach DM. An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oil. *J Essent Oil Res* 2000; 12: 249-255
6. Larrondo JV et al. Antimicrobial activity of essences from labiates. *Microbios* 1995; 82 (332): 171-172.
7. Puerta R, Saenz MT, Garcia MD. Antibacterial activity and composition of the volatile oil from *Achillea ageratum* L. *Phythother Res* 1996; 10: 248-250.

NOUTĂŢI

RESTADIALIZAREA NEOPLAZIILOR PRIN PET ŞI *FENOMENUL WILL ROGERS*

Metoda *PET - tomografia prin emisie de pozitroni* – permite detecţia imagistică a situsurilor de celulele neoplazice în relaţie cu modificarea metabolismului glucidic celular, foarte precoce, anterior depistării prin metode imagistice structurale. Ca urmare, utilizarea PET determină o restadializare a neoplaziei, cu îmbunătăţirea prognosticului acesteia, în populaţia diagnosticată prin această metodă. Pacienţii nou diagnosticaţi, consideraţi anterior ca aparţinând populaţiei sănătoase, se vor deplasa spre lotul de pacienţi oncologici, constatându-se, astfel, de o îmbunătăţire a duratei medii de viaţă şi a prognosticului atât în populaţia sănătoasă cât şi în cea oncologică. Acest fenomen este cunoscut sub numele de *fenomen Will Rogers*, în relaţie cu expresia faimosului comediant *Will Rogers* cu privire la migraţia localnicilor din *Oklahoma*, în timpul furtunilor de praf din 1930: *"When the Okies left Oklahoma and moved to California, they raised the average intelligence level in both states"* (Sandip B, Abass A. Staging with PET and the Will Rogers effect: redefining prognosis and the survival in patients with cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 1-4).

Cipriana Ştefănescu

NOI ABORDĂRI ÎN TRATAREA CANCERULUI TIROIDIAN

Deşi marea majoritate a pacienţilor cu cancer tiroidian pot fi trataţi prin terapiile tradiţionale, unii pot dezvolta boli progresive. În trecut pentru pacienţii cu carcinom metastatic tiroidian erau disponibile puţine tratamente alternative. Totuşi, înţelegerea acţiunii moleculare ce stă la baza dezvoltării cancerului tiroidian au determinat dezvoltarea unor noi terapii. În ultimii ani au fost iniţiate mai multe teste clinice terapeutice pe pacienţii cu cancer tiroidian progresiv. Agenţii farmacologici obţinuţi se pot diviza în diferite grupuri, funcţie de locul în care acţionează. O parte din aceştia acţionează asupra membranei plasmatice pentru a inhiba receptorii tirozinkinazei, printre care: rearanjarea în timpul transfecţiei (RET), receptorul factorului de creştere vascular endotelial (VEGFR) şi/sau receptorul factorului de creştere epidermic (EGFR). Terapia cancerului poate include şi acţiunea asupra nucleului (inhibarea angiogenezei). Alţi agenţi, cum ar fi derivaţi ai acidului retinoic acţionează asupra structurilor nucleare. Rezultatele abţinute cu aceşti agenţi farmacologici sunt promiţătoare, ei prezentând activitate împotriva cancerului tiroidian (Brown RL, Cohen EEW, Novel approaches in the treatment of thyroid cancer. *Update Cancer Therap* 2008; 3: 1-11).

Daniela Zavastin

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

STABILITATEA UNOR SOLUŢII ORALE DE CAPTOPRIL

Silvia Imre[1], Szende Vancea[2], Daniela Lucia Muntean[1], Emese Sipos[3], Adela Cociş[4], Veronica Avrigeanu[5], Eleonora Mircia[5]
Universitatea de Medicină şi Farmacie din Târgu-Mureş
Facultatea de Farmacie
1. Disciplina de Analiza Medicamentului
2. Disciplina de Chimie Fizică
3. Disciplina de Tehnologie Farmaceutică
5. Disciplina de Chimie Organică
SC Sandoz SA Târgu-Mureş
4. Departamentul de Controlul Calităţii

STABILITY OF SOME MEDICINAL SOLUTIONS WITH CAPTOPRIL (Abstract) : The aim of the study was to investigate the stability of some oral liquid formulations containing 1 mg/ml captopril. **Material and method** : The oral solutions were prepared using captopril substance, keeping the formulation as simple as possible to avoid potentially undesirable excipients. Samples were stored for 39 days below 8°C and at 22 ± 3°C and analysed for physical, chemical and microbiological stability. **Results** : The formulations with ascorbic acid are stable for seven days either at 8 and 22 °C and could be prepared in hospital pharmacy as a more safely alternative to children terapy with tablets powders. **Keywords** : CAPTOPRIL, ORAL SOLUTION, STABILITY

Adaptarea unei forme farmaceutice orale, concepută pentru administrarea la persoane adulte, în aşa fel încât doza obţinută să fie adecvată uzului pediatric, reprezintă o practică farmaceutică şi terapeutică curentă.

Numărul de produse farmaceutice industriale de uz pediatric este mic datorită uzului specializat al acestora, aceasta însemnând de regulă, pentru producătorii industriali un domeniu neatractiv din punct de vedere tehnologic şi economic. Numărul acestor produse variază de la ţară la ţară, reprezentând un segment îngust pe piaţa farmaceutică, iar cele mai multe sunt sub forma soluţiilor orale.

David J. Woods descria într-un articol sintetic, dar extrem de bine punctat, elementele de care trebuie să se ţină seamă în practica formulărilor farmaceutice de tipul soluţiilor orale preparate extempore (1). Autorul sublinia faptul că în absenţa unui produs adecvat de pe piaţa farmaceutică, farmaciştii sunt nevoiţi să prepare soluţii orale din comprimate, capsule sau substanţă medicamentoasă pentru uz pediatric pe termen scurt. Ca exemplu, în Australia peste 100 de medicamente sunt folosite pentru a obţine aproape 300 de formulări extempore diferite pentru uz pediatric. Problemele care se pun în aceste cazuri sunt:

- gustul deseori neplăcut
- asigurarea unei uniformităţi a conţinutului
- lipsa sau insuficienţa datelor referitoare la stabilitatea produsului.

Motivele utilizării produselor preparate extempore includ lipsa unui produs fabricat, preferinţele pacientului sau ale clinicii, adaptarea concentraţiilor la individ, superioritatea produsului preparat extempore şi sensibilitatea pacientului la produse fabricate.

S-au publicat numeroase manuale referitoare la obţinerea formulărilor farmaceutice extempore, dar reproducerea exactă a acestora în condiţiile proprii unei unităţi farmaceutice nu este posibilă întotdeauna şi, în plus, în ciuda numeroaselor studii de stabilitate efectuate în ultimii 20 de ani, există formulări publicate fără a fi însoţite de studii riguroase de stabilitate.

Formulele preparate extempore utilizează dozaje preexistente, agenţi şi ingrediente disponibile în comerţ. Nahata M. arată că pacienţii pediatrici au nevoie de doze bazate pe greutatea corporală, iar dozele fixe din comprimate, capsule nu pot fi administrate copiilor (2): „De exemplu captoprilul nu este disponibil decât în doze de 12,5; 25; 50 şi 100 mg, iar dozajul de 0,1-0,3 mg/kg înseamnă o doză de 1 mg în cazul unui pacient de 5 kg. Prin urmare singura soluţie practică ar fi prepararea unui lichid de 1 mg/mL care ar asigura doza necesară."

Una dintre substanţele utilizate frecvent în terapia pediatrică este captoprilul. Din câte cunoaştem există pe piaţă o singură soluţie orală industrială cu captopril (CPT), sub denumirea comercială de Capoten, de concentraţie 5 mg/mL, produsă de către Bristol-Myers-Squibb, produs care nu este înregistrat în România.

Lipsa în România a unor soluţii orale pediatrice de captopril produse industrial a reprezentat motivul realizării unui studiu experimental în urma căruia să se propună o reţetă magistrală de uz pediatric intraspitalicesc, *soluţie orală de captopril 1 mg/ml*. S-a avut în vedere o compoziţie cât mai simplă posibil, dar care să asigure stabilitatea captoprilului cel puţin 7 zile. Ţinând cont de frecvenţa relativ mare a administrării în secţia de cardiologie pediatrică a Spitalului Clinic Judeţean Târgu-Mureş, o astfel de perioadă de valabilitate ar fi suficientă. Conţinutul în substanţă activă al formulărilor realizate s-a determinat aplicând o metodă de cromatografie de lichide de înaltă performanţă (*High-Performance Liquid Chromatograhy*, HPLC) validă.

MATERIAL ŞI METODĂ

Aparatură:

- sistem HPLC 1100, Agilent Technologies (Statele Unite ale Americii), format din pompă cuaternară, degazor, injector automat, termostat, coloană, detector UV
- balanţă AB54S, Mettler-Toledo (Elveţia)
- pHmetru MP225, Mettler-Toledo (Elveţia)
- baie cu ultrasunete Transsonic T700/H, Elma (Italia)
- aparat de purificat apa Direct Q5, Millipore (Franţa)

Substanţe de referinţă, reactivi:

- captopril, standard de lucru (SC Helcor SA, România)
- ciclamat de sodiu (Alchimica), sorbitol, acid ascorbic (Merck, Germania)
- soluţie conservantă nipagin-nipasol 1 : 3 (materii prime Sigma-Aldrich)
- acetonitril, gradient grade pentru cromatografie (Merck, Germania)
- acid fosforic 85% (Merck, Germania)
- triscarboxietilfosfină (Merck, Germania)
- apă oxigenată (Chimopar, România)

Condiţiile metodei HPLC:

- coloană Zorbax Extend C18, 250x4,6 mm, 5 mm (Agilent Technologies, Statele Unite ale Americii), protejată de coloană Chromolith RP18e (Merck, Germania)
- faza mobilă: A. acid fosforic 0,01 M, 77%, B. acetonitril, 23%
- debitul fazei mobile: 1 mL/min
- temperatura coloanei: 50°C
- detecţie la 205 nm
- volum injectat: 50 mL
- temperatura probelor: 10°C

Compoziţia formulările farmaceutice studiate este prezentată în tabelul I.

Mod de lucru:

Soluţiile orale au fost obţinute în condiţiile respectării principiilor de preparare a soluţiilor orale şi ţinând cont de factorii care afectează stabilitatea CPT (metale, oxidanţi,

TABELUL 1
Compoziţia soluţiilor orale studiate

Substanţa	Cod soluţie orală			
	SO1	SO2	SO3	SO4
Captopril, g	0,1	0,1	0,1	0,1
Ciclamat de sodiu, g	0,1	-	0,1	-
Sorbitol, g	-	35	-	35
Acid ascorbic, g	-	-	0,1	0,1
Soluţie conservantă, mL	la 100	la 100	la 100	la 100

pH etc.). Fiecare tip de soluţie a fost împărţit în două, o parte a fost menţinută la temperatura camerei (22°C) şi cealaltă parte la frigider (t < 8°C) în recipiente de plastic alb. La diferite intervale de timp au fost prelevate probe pe o perioadă de 40 de zile care au fost analizate prin cromatografie de lichide de înaltă performanţă în condiţiile cromatografice prezentate anterior după diluare 1 : 100 cu apă. La sfârşitul studiului s-a verificat microbiologic sterilitatea soluţiilor orale.

Performanţele analitice ale metodei HPLC aplicate la dozarea captoprilului

Linearitatea metodei

S-a verificat linearitatea aplicând un model linear de calibrare şi metoda celor mai mici pătrate, pe domeniul 2 - 12 mg/mL CPT soluţii apoase. Cromatografierea s-a realizat imediat după preparare, temperatura probelor în autosampler fiind de 10°C. Au fost preparate şi analizate cinci soluţii standard cu nivele diferite de concentraţie (N = 5 puncte de calibrare), fiecare concentraţie fiind realizată de n = 3 ori.

Exactitatea şi repetabilitatea metodei

Exactitatea şi repetabilitatea metodei (precizia în aceeaşi serie de analiză, „intra-assay precision") au fost verificate la nivelul de concentraţie corespunzător concentraţiei aşteptate în probele de soluţii orale, după diluare 1 : 100 cu apă, şi anume 10 mg/mL. Pentru aceasta s-au preparat în aceeaşi zi n = 5 soluţii de CPT cu concentraţia 10 mg/mL, analizate prin HPLC, concentraţiile obţinându-se prin raportare la curba de calibrare a seriei de analiză. Exactitatea s-a exprimat ca eroarea relativă a mediei concentraţiilor găsite faţă de valoarea teoretică ($E_r\%$), iar precizia ca deviaţia standard relativă (coeficient de variaţie CV%) a rezultatelor faţă de valoarea medie.

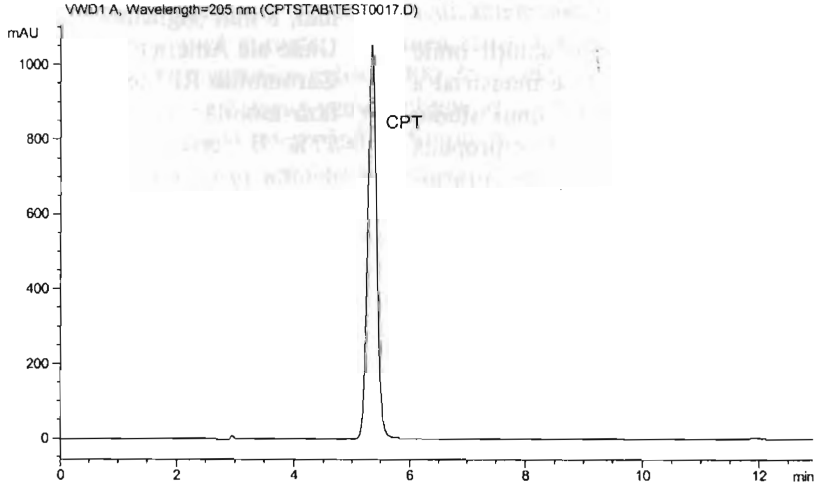


Fig. 1. Cromatograma soluţiei de CPT 105 mg/mL în condiţiile cromatografice propuse ($t_{R\ CPT}$ = 5,3 min)

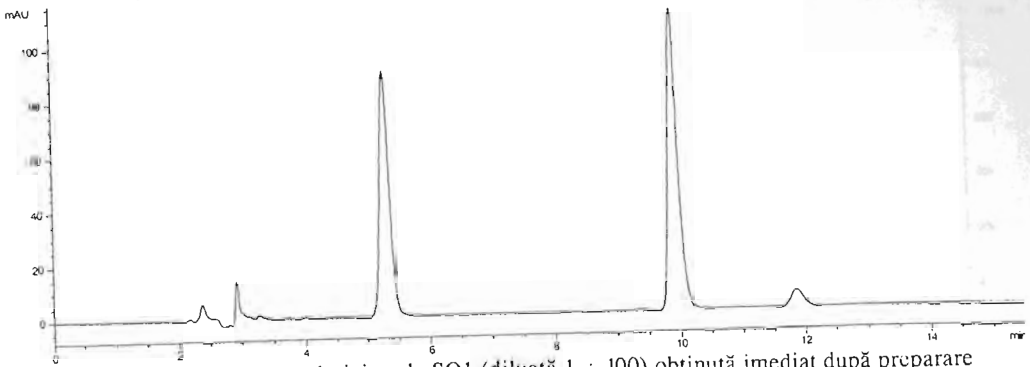


Fig. 2. Cromatograma soluţiei orale SO1 (diluată 1 : 100) obţinută imediat după preparare ($t_{R\ CPT}$ = 5,3 min)

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Dezvoltarea metodei HPLC

Condiţiile HPLC au fost astfel alese încât să permită separarea captoprilului de celelalte componente din formulări (fig. 1, 2, 3), dar şi cromatografierea specifică în raport cu potenţialii produşi de degradare.

După cum se ştie, captoprilul este o substanţă extrem de instabilă, transformându-se în diverşi produşi de oxidare, cel mai important fiind disulfura. S-a demonstrat experimental că oxidarea captoprilul în soluţie apoasă a fost de peste 50% după 10 zile de păstrare la temperatura de 22°C şi, chiar şi la temperatură scăzută, după 10 zile totalitatea impurităţilor separate (A + B) a fost de peste 5% (fig. 4).

Produşii de degradare observaţi sunt produşi de oxidare deoarece la adăugare de reducător (triscarboxietilfosfină TCEP) s-a constatat reducerea picurilor impurităţilor şi creşterea picului corespunzător captoprilului (fig. 5).

Pentru a verifica specificitatea metodei în raport cu toţi potenţialii produşi de degradare, s-a realizat degradarea forţată a captoprilului în prezenţa apei oxigenate. Aşa cum se observă din figura 6 metoda HPLC permite pe lângă dozarea CPT şi separarea specifică a produşilor de degradare oxidativă, fiind de fapt o metodă de indicare a stabilităţii.

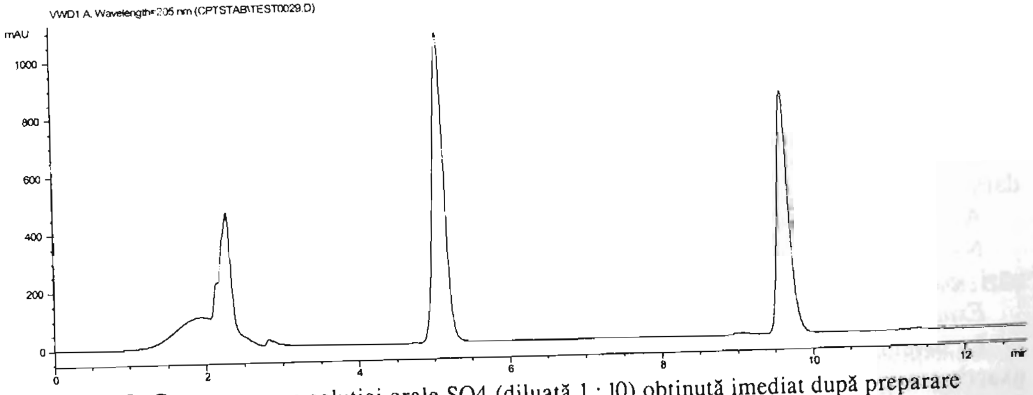


Fig. 3. Cromatograma soluţiei orale SO4 (diluată 1 : 10) obţinută imediat după preparare ($t_{R\ CPT}$ = 5,3 min)

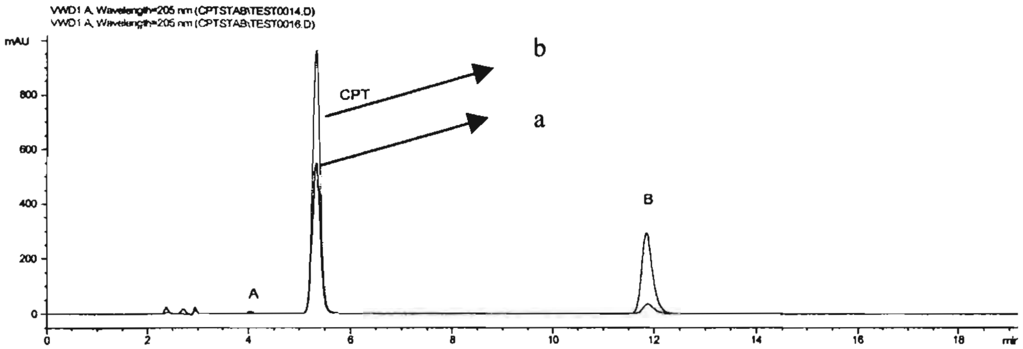


Fig. 4. Cromatogramele suprapuse ale soluţiilor de CPT 100 mg/mL în apă, menţinute timp de 10 zile la (a) temperatura camerei, respectiv (b) temperatură sub 8 °C

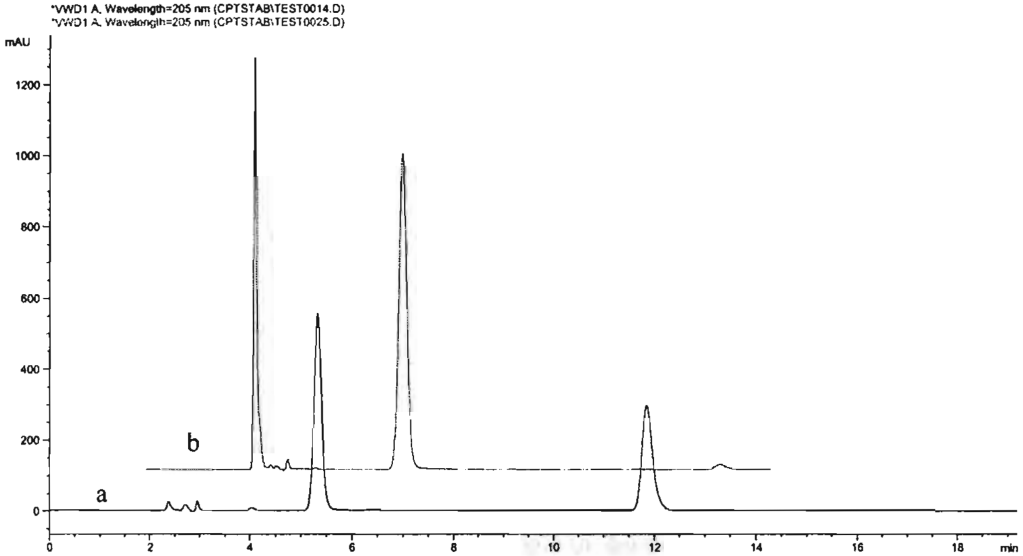


Fig. 5. Cromatogramele unor soluţii de CPT 100 mg/mL în apă ţinută la t = 22 °C timp de 10 zile (a) fără TCEP şi (b) cu TCEP, timp de reacţie 50 minute

Performanţele analitice ale metodei analitice utilizate la dozarea captoprilului

Linearitatea metodei

Curba de calibrare medie (metoda standardelor externe) a fost:

Aria = 108,8($\pm$1,3) c - 11,15($\pm$3,67)

N=5 puncte de calibrare, n=3 replicări, coeficient de corelare r > 0,999.

Exactitatea şi repetabilitatea metodei

La nivelul de concentraţie de 10 mg/ml, exactitatea a fost de -0,3%, iar precizia 0,79% (n=5).

Stabilitatea soluţiilor orale de captopril

S-a studiat stabilitatea soluţiilor orale de CPT preparate la două temperaturi, 22 °C şi 8 °C, timp de 39 de zile. La diferite intervale de timp au fost prelevate probe şi analizate imediat după diluare 1 : 100 cu apă, observându-se în acelaşi timp aspectul soluţiilor.

Rezultatele sunt prezentate cumulat în figurile 7-10. Soluţiile orale fără acid ascorbic s-au degradat rapid, după o zi pierzând mai mult de 10% din conţinutul iniţial de captopril. Cum era de aşteptat, temperatura scăzută a redus viteza reacţiei de oxidare a captoprilului, indiferent de formulare.

Soluţiile orale cu acid ascorbic au prezentat o stabilitate superioară, menţinându-şi timp de 4 zile conţinutul de acid ascorbic peste limita de 90% din conţinutul iniţial,

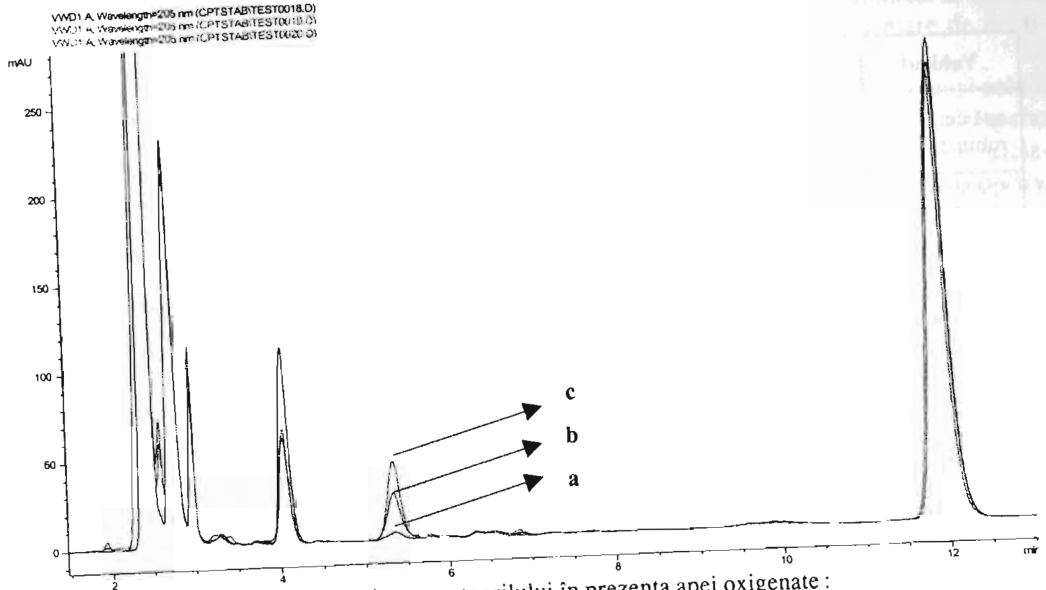


Fig. 6. Degradarea captoprilului în prezenţa apei oxigenate:
a. CPT degradat cu apă oxigenată; b. cu 50 mL TCEP; c. cu 150 mL TCE

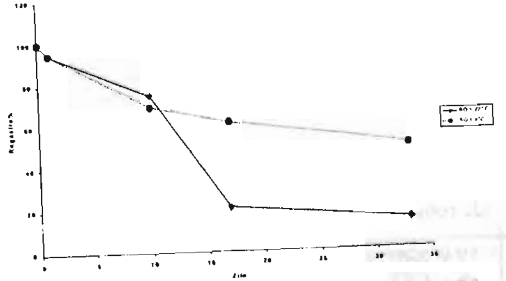


Fig. 7. Profil de stabilitate a soluţiei orale SO1

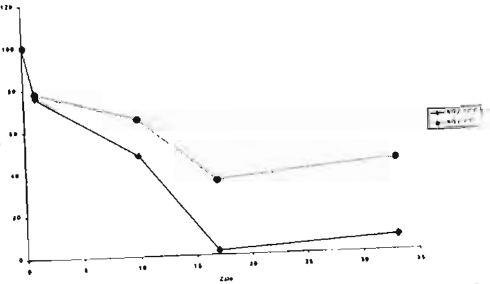


Fig. 8. Profil de stabilitate a soluţiei orale SO2

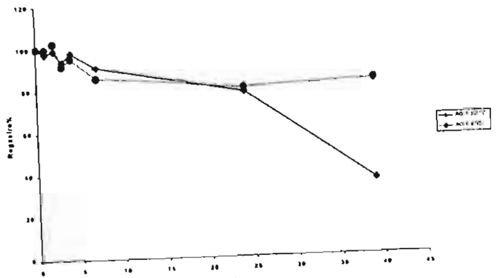


Fig. 9. Profil de stabilitate a soluţiei orale SO3

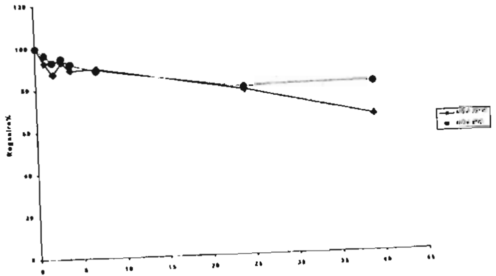


Fig. 10. Profil de stabilitate a soluţiei orale SO4

TABELUL II

Studii de stabilitate a unor soluţii orale de captopril

Vehicul	Factori de influenţă	Dozare	Observaţii	Referinţă
apă de robinet	temperatură timp	HPLC	-la 5°C stabilă 27 zile -la 25°C,50°C,75°C conc. CPT scade sub 90%	(3)
apă sterilă apă HPLC	–	HPLC	-cu apă HPLC soluţia de CPT este mai stabilă decât cu apă sterilă	(4)
sirop diluat sirop nediluat	–	HPLC	-cu sirop nediluat soluţia de CPT mai stabilă decât cu sirop nediluat	(4)
sirop	tampon citric zaharoza glucoza	HPLC	-tamponul citric în conc. mici are efect stabilizator -zaharoza în conc.mari – efectul stabilizator nu este prezent -glucoza în conc. 10% duce la degradarea CPT	(5)
soluţie de zahăr invertit	conc. zahărului invertit	HPLC	-sol. 1%,10%,30% de zahăr invertit mai puţin stabile; sol. 85% mai stabilă. Efectul antioxidant al zahărului invertit inhibă degradarea oxidativă a CPT-lui	(6)
apă sirop	-comprimate -pulbere	HPLC	-cu apă mai stabile -cu sirop mai puţin stabile -apă+pulbere de CPT mai stabil decât apă+comprimate	(7)
apă	ionii metalici	HPLC	-degradrea CPT-lui prin oxidarea grupării -SH	(8,9)
apă de robinet apă minerală apă distilată	–	HPLC	-sol. de CPT cu apă distilată este mult mai mai stabilă decât cu apă de robinet şi apă minerală	(10)
apă	pH=2, 4, 6, 8, 10	HPLC	-cu creşterea pH-ului soluţiei scade conc. CPT -la pH=4 începe procesul de degradare a CPT-lui	(11)
apă distilată	-EDTA NA_2 -metabisulfit de sodiu -acid ascorbic -ascorbat de sodiu -sirop	HPLC	-soluţiile cu antioxidanţi şi agenţi chelatanţi mai puţin stabile decât doar cu apă distilată	(10)
apă	Ora- Plus conţine: NaH_2PO_4 < 1%, carboximetilceluloză sodică < 1%, celuloză microcristalină < 1%, gumă de xantan < 1%, carageen <1 %. Ora - Sweet SF conţine: sorbitol 10%, glicerină 9%, zaharină sodică 0,1%.	HPLC	7 zile la 25^{0}C sau 14 zile la 5^{0}C cu vehiculul Ora Sweet: Ora Plus şi 5 zile la 25^{0}C sau 10 zile la 5^{0}C cu vehiculul Ora Sweet Sf: Ora Plus.	(12)

indiferent dacă soluţiile au fost păstrate la frigider sau la temperatura camerei. La 7 zile conţinutul variază în jurul limitei de 90 %.

Tot din analiza datelor reiese faptul că soluţiile preparate în sorbitol şi în absenţa acidului ascorbic au o tendinţă de degradare mai accelerată.

După 39 de zile, niciuna dintre soluţiile orale nu a prezentat contaminare microbiană.

Analizând rezultatele proprii comparativ cu cele obţinute în cadrul altor studii, uneori contradictorii, privind stabilitatea CPT în soluţii orale (tab. II), se constată că soluţiile orale propuse care conţin acid ascorbic sunt o formulare rapidă şi simplă, cu o stabilitate bună ce le recomandă pentru includerea în receptura farmaciilor de spital.

CONCLUZII

Captoprilul există pe piaţă sub formă de comprimate, capsule şi o singură soluţie orală, momentan indisponibilă pe piaţa autohtonă. Din cauza lipsei soluţiilor comerciale de captopril şi utilizării sale pediatrice frecvente, produsele preparate extempore cu acest farmacon au continuat să crească în pofida numărului tot mai mare de medicamente pediatrice aprobate.

În vederea studiului stabilităţii unei soluţii orale de captopril de 1 mg/mL, s-au preparat 4 soluţii orale având ca îndulcitori ciclamatul şi sorbitolul, în prezenţa şi, respectiv, absenţa acidului ascorbic ca antioxidant. S-a ajuns la concluzia că formulările cu acid ascorbic prezintă o stabilitate care le-ar putea recomanda pentru uzul pediatric intraspitalicesc în cel mult 7 zile de la preparare, indiferent dacă sunt păstrate la 8°C sau 22°C.

Stabilitatea formulărilor cu acid ascorbic ar putea fi mărită tamponând soluţiile la o valoare a pH-ului sub 4 la care, conform datelor din literatură, stabilitatea captoprilului este maximă. Este necesar să se evalueze cantitativ şi impurităţile formate, lipsa de etaloane specifice făcând momentan imposibilă abordarea acestor aspecte.

Toate cele patru formulări au fost lipsite de contaminare microbiană după 39 de zile de la preparare, indiferent de temperatură, păstrându-şi totodată claritatea.

BIBLIOGRAFIE

1. Woods DJ. *Extemporaneous formulations of Oral Liquids. A Guide.* http://www.pharminfotech.co.nz/manual/Formulation/extemprep.pdf
2. Nahata MC. Need for Extemporaneous Formulations in Pediatric Patiens. *Secundum artem. Current and Practical Compounding Information for the Pharmacist.* http://www.paddocklabs.com/forms/secundum/volume_8_3.pdf
3. Pereira CM, Tam YK. Stability of captopril in tap water. *Am J Health Syst Pharm* 1992 ; 49 : 612-615.
4. Lye MY, Yow KL, Lim LY, Chan SY, Chan E, Ho P. Effect of ingredients on stability of captopril in extemporaneously prepared oral liquids. *Am J Health Syst Pharm* 1997 ; 54 : 2483-2487.
5. Liu J, Chan S, Ho P. Effect of sucrose, citric buffer and glucose oxidase on the stability of captopril in liquid formulations. *J Clin Pharm Ther* 1999 ; 24 (2) : 145-150.
6. Sam W, Ho P. Stability of captopril in invert sugar solutions. *J Clin Pharm Ther* 1998 ; 23 (6) : 451-456.
7. Pramar Y, Das Gupta V, Bethea C. Stability of captopril in some aqueous systems. *J Clin Pharm Ther* 1992 ; 17 (3) : 185-189.
8. Lee T, Notari RE. Kinetics and mechanism of captopril oxydation in aqueous solution under controlled oxygen partial pressure. *Pharm Res* 1987 ; 4 : 98-103.
9. Schlatter J, Sola A, Saulujer JL. Stabilite d' une solution orale de captopril 1 mg/ml. *J Pharm Clin* 1997 ; 16 (2) : 125-128.
10. Escaribano Garcia MJ, Torrado Duran S, Torrado Duran JJ. Estudio de estabilidad de soluciones aquosas de captopril en concentratiбn de 1 mg/ml. *Farm Hosp* 2005 ; 29 : 30-36.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

COMPLECŞI AI ACIDULUI FOSFOWOLFRAMIC CU APLICAŢII ANALITICE. CONSTRUCŢIA ŞI CARACTERIZAREA UNOR ELECTROZI MEMBRANĂ SELECTIVI PENTRU UNELE ANTIHISTAMINICE H2

M. Apostu, V. Dorneanu
Universitatea de Medicină şi Farmacie "Gr.T. Popa" Iaşi
Facultatea de Farmacie
Disciplina de Chimie Analitică

ANALYTICAL APPLICATION OF PHOSPHOTUNGSTIC ACID COMPLEXES. FABRICATION AND CHARACTERISATION OF MEMBRANE SELECTIVE ELECTRODES FOR SOME H2 ANTIHISTAMINICS (Abstract): PVC matrix membrane selective electrodes for ranitidine, nizatidine and famotidine, based on sparingly soluble complexes, were prepared and characterized. The optimum functional pH range, response time, selectivity and lifetime were determined for each of the built electrodes. The linear range, precision and accuracy of each method were obtained by statistical interpretation of experimental results, while the limit of detection and thelimit of quantification were determined by a graphical method. All these electrodes were applied for the direct quantitative potentiometric determination of ranitidine hydrochloride, nizatidine and famotidine in pharmaceutical formulations. **Key words**: FAMOTIDINE, NIZATIDINE, RANITIDINE, MEMBRANE SELECTIVE ELECTRODES

Electrozii membrană - selectivi ocupă un loc important în domeniul chimiei analitice datorită avantajelor pe care aceştia le oferă: construcţie simplă şi utilizare facilă, selectivitate şi sensibilitate ceea ce îi face să poată fi utilizaţi pentru analize rapide pe probe complexe, ce conţin cantităţi mici de analit.

În general, prin "electrod - membrană" se înţelege un sistem în care o membrană specială separă două soluţii de electroliţi ce conţin concentraţii diferite ale aceluiaşi ion şi între care apare o diferenţă de potenţial corespunzătoare diferenţei de concentraţie de o parte şi de alta a membranei.

Literatura de specialitate citează utilizarea complecşilor acidului fosfowolframic la obţinerea unei membrane selective pentru piricapiron (1), tetramisol (2), flufenazină, metixenă şi dibenzepin (3) sau a cationului de hexadeciltrimetilamoniu (4).

În cercetările noastre, complecşii greu solubili ai ranitidinei, nizatidinei şi famotidinei cu acidul fosfowolframic au servit ca materiale electroactive la obţinerea de membrane selective pentru cele trei substanţe farmaceutice.

MATERIAL ŞI METODA

Reactivi şi aparatură

- Soluţii etalon de ranitidină clorhidrat, nizatidină şi famotidină (concentraţii cuprinse între 10^{-1} - 10^{-7} mol/L);
- Soluţie internă de referinţă - soluţia analitului 10^{-3} mol/L în soluţie saturată de AgCl;
- Electrozi membrană selectivi (EMS) de construcţie proprie pentru ranitidină (E-RFW), nizatidină (E-NFW) şi famotidină (E-FFW);

- Electrod saturat de calomel (ESC);
- pH / mV - metru Hanna 301.

Metodă

Electrozii realizaţi au fost utilizaţi pentru determinări prin metoda potenţiometrică directă, celula electrochimică fiind formată din electrodul membrană - selectiv de construcţie proprie, ca electrod indicator, şi un electrod de referinţă extern - electrodul saturat de calomel.

Celulă electrochimică utilizată poate fi reprezentată astfel:

$$\begin{matrix}\textbf{Electrod membrană} \\ \textbf{analit}^{+}\textbf{ - selectivă}\end{matrix} \;\Bigg\|\; \begin{matrix}[\textbf{analit}^{+}] \\ \mu = \textbf{constant} \\ \textbf{pH optim}\end{matrix} \;\Bigg\|\; \textbf{ESC}$$

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În vederea determinării potenţiometrice directe, este necesar ca după stabilirea tăriei ionice, pH - ului optim pentru funcţionarea electrodului respectiv şi a timpului de răspuns să se traseze curba de calibrare a electrodului prin reprezentarea grafică FEM = f (pC), unde pC = - log [$analit^{+z}$].

Construcţia electrozilor membrană selectivi cu matrice PVC

Membrana selectivă a fost obţinută în urma evaporării tetrahidrofuranului (THF) dintr-o soluţie ce conţine în procente de masă, 1 % material electroactiv (complexul greu solubil sintetizat), 68 % dioctilftalat (DOF) ca plastifiant şi 31 % policlorură de vinil (PVC) pulbere (5,6).

Din membrana obţinută se taie discuri cu diametre corespunzătoare ce se aplică la capătul unui tub PVC utilizând ca adeziv un amestec PVC - THF. În corpul electrodului se introduce soluţia internă de referinţă în care a fost imersat electrodul intern de referinţă. Ag/AgCl (fig. 1).

Influenţa tăriei ionice

Pentru a minimaliza eroarea datorată efectelor activităţii, standardele şi probele au fost tratate cu electrolit inert. S-au efectuat determinări pe seturi de soluţii ale substanţelor de analizat (10^{-7} - 10^{-1} mol/L), folosind ca ajustator de forţă ionică soluţii de nitrat de potasiu (KNO_3) de diferite con-

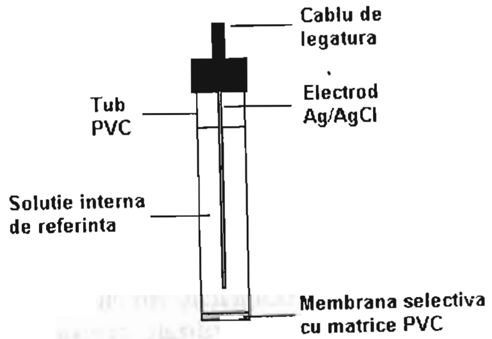

Cablu de legatura
Electrod Ag/AgCl
Tub PVC
Solutie interna de referinta
Membrana selectiva cu matrice PVC

Fig. 1. Construcţia unui electrod membrană selectiv cu matrice PVC

TABELUL I

Principalele caracteristici funcţionale ale electrozilor membrană selectivi cu matrice PVC

Electrod	Domeniul de pH	Timp de răspuns (sec.)	Domeniul de răspuns liniar (mol/L) / factor corelaţie r	Panta (P) mV/ decadă de conc.	Precizia: Repetab. (RSD %) Seria 1	Precizia: Repetab. (RSD %) Seria 2	Precizia: Reprod. (RSD %)	Acurat. (Xd %)	LD mol/L (·10^{-6})	LQ mol/L (·10^{-6})
E-RFW	1,0 - 5,0	≤ 30	10^{-5} - 10^{-1} / 0,999947452	49,66	3,905997	3,632041	3,658910	3,181210	6,20	9,10
E-NFW	1,0 - 5,0	≤ 30	10^{-5} - 10^{-1} / 0,9999286	32,05	3,790523	3,470820	3,526129	3,398444	7,48	9,40
E-FFW	1,0 - 5,0	≤ 30	10^{-5} - 10^{-1} / 0,999974577	40,06	2,548560	2,285715	2,423927	2,183055	7,22	8,80

centraţii. Valoarea cea mai mare a pantei s-a obţinut la o tărie ionică, $\mu = 0{,}1$ (tab. I).

Influenţa pH-ului

Domeniul de pH optim este intervalul de pH în care răspunsul electrodului nu este influenţat de ionii de hidrogen sau de hidroxil din soluţie. S-au făcut măsurători de potenţial la trei nivele diferite de concentraţie : 10^{-2} , 10^{-3} şi 10^{-4} mol/L analit pentru valori ale pH-ului cuprinse între 1,0 şi 10,0 realizate cu ajutorul soluţiilor tampon (tab. I).

Timpul de răspuns

Caracteristicile de răspuns s-au evaluat prin introducerea electrozilor în soluţii ale analitului, în domeniul de concentraţie cuprins între 10^{-5} - 10^{-2} mol/L şi înregistrarea valorilor potenţialelor în funcţie de timp (tabelul I).

Domeniul de răspuns liniar

Domeniul pentru care există o dependenţă liniară a potenţialului măsurat funcţie de concentraţia analiţilor a fost cuprins pentru toţi cei trei electrozi între 10^{-5} mol/L - 10^{-1} mol/L.

În scopul aprecierii liniarităţii metodei în acest domeniu, au fost efectuate trei serii de determinări, rezultatele obţinute fiind prelucrate statistic şi utilizate pentru trasarea curbei de calibrare (tab. I).

Precizia metodei

Pentru aprecierea preciziei metodei (tab. I) s-au efectuate două serii de determinări, în zile diferite, cu reactivi provenind din surse diferite. Au fost luate în lucru trei concentraţii de analit 10^{-4}, 10^{-3} şi 10^{-2} mol/L ; pentru fiecare din aceste concentraţii au fost efectuate câte trei determinări pe serie.

Concentraţia de analit se calculează de pe curba de calibrare ştiind că : C (mol/L) = 10^{-pC}.

Acurateţea metodei

În scopul aprecierii acurateţei metodei (tabelul I) a fost calculată eroarea relativă (Xd) în intervalul de concentraţii cuprins între 10^{-4} - 10^{-2} mol/L analit (Xr este valoarea calculată de pe curba de calibrarea pentru valoarea teoretică Xa).

$$Xd = \frac{|Xr - Xa|}{Xa} \cdot 100 \le 5\%$$

Limita de detecţie LD

Pentru calcularea limitei de detecţie sa fost utilizată o metodă grafică. S-a calculat ecuaţia dreptei de regresie pentru domeniul liniar şi pentru domeniul în care răspunsul electrodului rămâne relativ constant. Intersecţia celor două drepte reprezintă concentraţia minimă detectabilă - LD (tabelul I).

În figura 2 este prezentată metoda grafică de calcul a LD.

Limita de cuantificare LQ

Pentru determinarea limitei de cuantificare s-a calculat ecuaţia dreptei de regresie pentru domeniul liniar. Concentraţia minimă determinată cu precizie, LQ, reprezintă ultimul punct experimental care se încadrează pe această dreaptă (tab. I).

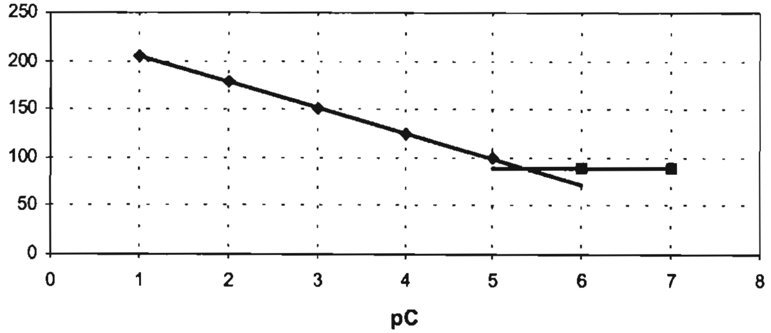


Fig. 2. Determinarea grafică a limitei de detecţie

Selectivitatea electrodului

Selectivitatea electrozilor a fost testată prin metoda *«celor două soluţii»* (7), ce constă în măsurarea potenţialului EMS într-o soluţie ce conţine analitul (A^+) respectiv şi compararea valorii acestuia (ΔE) cu valoarea potenţialului aceluiaşi electrod imersat într-o soluţie ce conţine cationul interferent (I^{z+}) la aceeaşi concentraţie, pH şi tărie ionică.

Pentru calcularea coeficientului de selectivitate, K, s-a utilizat relaţia :

$$K = 10^{\frac{\Delta E}{P}} \cdot \frac{[A^+]}{[I^+]}$$

unde P este panta dreptei de calibrare pentru analit.

Valorile obţinute pentru coeficientul de selectivitate arată că numai compuşii cu structură apropiată interferă dar la nivele de concentraţii mult mai mici decat cele utilizate la trasarea curbei de etalonare pentru analiţi.

În tabelul I sunt redate caracteristicile funcţionale pentru electrozii construiţi.

Aplicaţii analitice

Electrozii construiţi şi studiaţi au fost aplicaţi la determinarea cantitativă prin potenţiometrie directă a ranitidinei clorhidrat, nizatidinei şi famotidinei din forme farmaceutice (comprimate, capsule, soluţii injectabile), rezultatele obţinute încadrându-se în limitele prevăzute de Farmacopeea Română ediţia a-X-a.

CONCLUZII

Au fost realizaţi electrozi membrană selectivi cu matrice PVC pentru ranitidină, nizatidină şi famotidină ce folosesc ca materiale electroactive complecşi greu solubili ai acestora cu acidul fosfowolframic.

Pentru fiecare electrod construit au fost stabilite prin prelucrare statistică a datelor experimentale domeniul de liniaritate, precizia şi acurateţea ; au fost determinate printr-o metodă grafică limita de detecţie şi limita de cuantificare.

Durata de viaţă a electrozilor variază în funcţie de frecvenţa utilizării acestora şi a solubilităţii în apă a compuşilor greu solubili ce au constituit materialul electroactiv. Pentru determinări cu rezultate satisfăcătoare şi o bună reproductibilitate a măsurătorilor de potenţial, este de preferat să se apeleze la electrozi cu o membrană proaspăt preparată.

Electrozii construiţi şi-au găsit aplicaţii în determinarea celor trei substanţe din forme farmaceutice.

BIBLIOGRAFIE

1. Sagadeeva OO, Tkach VI, Glukhova OI, Tsyganok LP, Ivon TA. Piricapiron - selective electrode and its response characteristics. *J Anal Chem* 1997 ; 52 (10) : 992 - 994.
2. Issa YM, Rizk MS, Shoukry AF, Abdel - Aziz R, Abdel - Fattah HM, Atia EM. Construction and performance characteristics of new tetramisole - selective plastic membrane electrodes. *Talanta* 1994 ; 41 (1) : 135 - 141.
3. Bouklouze AA, El - Jammal A, Patriarche GJ. Polymeric - membrane ion - selective electrodes for certain types of drugs. *Analisis* 1991 ; 19 (1) : 27 - 30.
4. Badawy SS, Shoukry AF, Farghaly RA. Hexadecyltrimethylammonium cation - sensitive polymeric membrane electrode based on the hexadecyltrimethylammonium - phosphotungstate ion association. *Microchem J* 1989 ; 40 (2) : 181 - 186.
5. Covington AK. Ion - Selective Electrode Methodology - vol. 1 & 2, CRC Press, Boca Raton, FL, 1979.
6. Pungor E. The theory of ion - selective electrodes. *Anal Sci* 1998 ; 14 (2) : 249 - 256.
7. Srinivasan K, Rechnitz GA. Selectivity studies on liquid membrane ion selective electrodes. *Anal Chem* 1969 ; 41 : 1203 - 1208.

Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat., Iaşi - 2008 - vol. 112, nr. 3

FARMACIE **ARTICOLE ORIGINALE**

SYNTHESIS AND ANTITUBERCULOSIS ACTION OF SOME NEW PYRUVIC ACID DERIVATIVES

Margareta Ungureanu[1], Daniela Diculencu[2], Cristina Archip[2]
"Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iaşi
1 Scholl of Medical Bioengineering
2 Pneumonology Hospital Iaşi

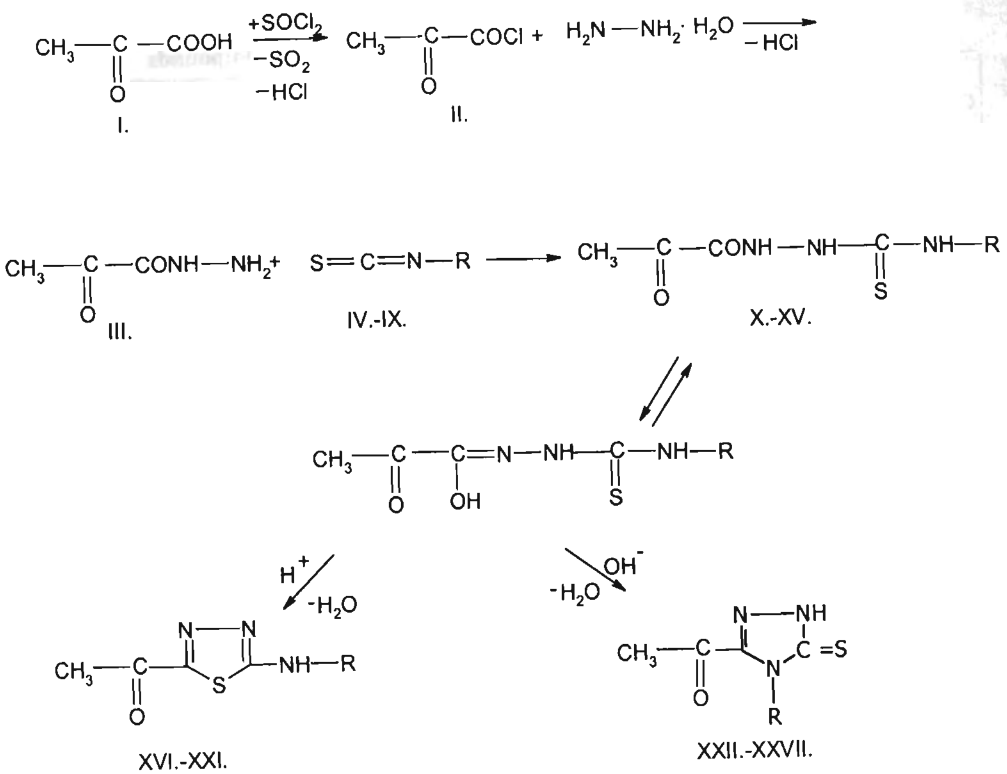
SYNTHESIS AND ANTITUBERCULOSIS ACTION OF SOME NEW PYRUVIC ACID DERIVATIVES (Abstract): The present paper studies the synthesis and activity of 12 new azoic derivatives against *Mycobacterium tuberculosis*. **Material and method**: In order to obtain new antituberculosis substances, we studied 6 thiadiazolic derivatives and 6 triazolic derivatives of pyruvic acid and we observed the influence of the different radical groups inserted in the molecule on their antituberculosis activity. For this study we developed a simple method to obtain the new derivatives. The first stage of the experiment was the synthesis of the thyosemicarbazide derivatives. In order to obtain the thiadiazolic derivatives we treated the thyosemicarbazides with concentrated sulfuric acid. The triazolic derivatives were obtained after treating the thiosemicarbazide derivatives with a diluted NaOH solution at boiling. **Results**: The structure of the substances was furthermore confirmed by IR and quantitative elemental analysis. The newly obtained substances were tested on the *Mycobacterium tuberculosis* complex, 6 concentrations for each substance. Early tests on *Mycobacterium tuberculosis* indicate that 2 of the tested substances have clear antituberculosis activity in vitro for the tested concentrations. For the other tested substances further research is needed since the CMI hasn't been reached in their cas. **Conclusions**: We synthesised 12 new thiadiazolic and triazolic derivatives in order to obtain new possible antituberculosis agents. Early tests on *Mycobacterium tuberculosis* indicate that 2 of the tested substances have clear antituberculosis activity *in vitro* for the tested concentrations. **Key words**: ANTITUBERCULOSIS ACTION, THIADIAZOLIC AND TRIAZOLIC DERIVATIVES

Romania has one of the highest incidences of tuberculosis in Europe, reaching 130 cases $\%_{000}$. In 1998, WHO introduced the DOTS (Directly Observed Therapy, Short course) strategy in Romania. The pilot programme was applied in Iasi and it was subsequently extended to the entire country (1,2).

The concern for finding new methods to fight this disease leads us in our research to find new antituberculosis substances.

The international pharmaceutical studies concerning the development of new agents against *Mycobacterium tuberculosis* target two objectives. The first objective studies the derivatives of the classic antituberculosis agent and the second objective studies the substances known to have antimicrobial action (antibiotics, sulphamides, quinolones etc.)

The literature in this field (3,4) has already established that some of the thiadiazolic derivatives have antimicrobial, antiviral, antiinflammatory, antihypertensive and hypoglycemiant activities. Also, some of the triazolic derivatives have citostatic, hypotensive, antituberculosis and antiinflammatory activities (5,6).



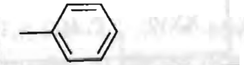
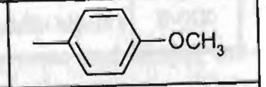
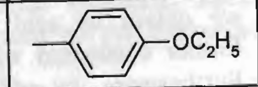
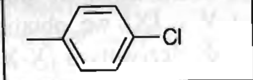
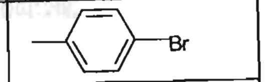
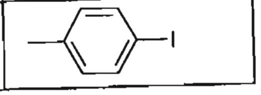
Compounds	R
IV, X, XVI, XXII	
V, XI, XVII, XXIII	
VI, XII, XVIII, XXIV	
VII, XIII, XIX, XXV	
VIII, XIV, XX, XXVI	
IX, XV, XXI, XXVII	

Fig. 1. The synthesis of new pyruvic acid derivatives

The pyruvic (alpha - ceto propionic) acid, the starting molecule for our synthesis is largely used for organic and pharmaceutical synthesis and it is an important product of the glucidic metabolism, playing an important role in glycogenolisis (6).

MATERIALS AND METHODS

In order to extend our researches for obtaining antituberculosis substances (7,8, 9), we studied a simple, reproductible and precise method to obtain the 12 new azolic derivatives.

The first stage of the experiment was the synthesis of the thyosemicarbazide derivatives (X - XV), commencing with the pyruvic acid (fig. 1).

The reactions in figure 1 show that by adding thyonil chloride to the pyruvic acid

TABLE I
The principal characteristics of new synthesized compounds

Compound	Molecular formula	Melting pt. °C	η%	Elemental analysis			I.R cm^{-1}
				C% Calc/Found	H% Calc/Found	N% Calc/Found	
XVI	$C_{10}H_9O_1N_3S_1$	199-200	91,10	54,80	4,10	19,16	3200,1670,1600, 1530,970,730
				55,06	3,85	18,79	
XVII	$C_{11}H_{11}O_2N_3S_1$	170-172	89,81	53,02	4,41	16,85	3410,3020,1580, 950,830,740
				52,75	4,68	17,01	
XVIII	$C_{12}H_{13}O_2N_3S_1$	197-199	90,25	54,76	4,93	15,95	3400,3340,1700, 1210,1090,960,800
				54,38	5,12	16,27	
XIX	$C_{10}H_8O_1N_3S_1Cl_1$	195-197	89,16	47,35	3,15	16,56	3300,1620,950,700
				47,08	2,86	16,90	
XX	$C_{10}H_8O_1N_3S_1Br_1$	173-174	88,19	40,29	2,68	14,09	3250,1580,940, 820,600
				40,51	2,32	13,85	
XXI	$C_{10}H_8O_1N_3S_1I_1$	191-193	90,22	34,80	2,31	12,17	3150,1590,1460,950,810,480
				35,11	2,69	11,79	
XXII	$C_{10}H_9O_1N_3S_1$	177-178	92,09	54,80	4,10	19,16	3100,1745,1210,970,770
				55,19	4,35	18,85	
XXIII	$C_{11}H_{11}O_2N_3S_1$	215-216	91,72	53,02	4,41	16,85	2980, 1490, 1260,1155,825
				52,81	4,75	16,63	
XXIV	$C_{12}H_{13}O_2N_3S_1$	180-182	85,95	54,76	4,93	15,95	2900,1500,1095, 1230,815
				54,52	5,13	16,26	
XXV	$C_{10}H_8O_1N_3S_1Cl_1$	165-166	89,70	47,35	3,15	16,56	2950,1550,1280, 840,670
				47,71	2,83	16,33	
XXVI	$C_{10}H_8O_1N_3S_1Br_1$	181-182	92,05	40,29	2,68	14,09	2960,1750,950, 820,600
				40,64	2,32	13,88	
XXVII	$C_{10}H_8O_1N_3S_1I_1$	151-152	92,91	34,80	2,31	12,17	3110,2900,2450, 1170,820,500
				34,61	2,59	11,81	

we obtain its acid chloride, which was further condensed with hydrazide hydrate. Furthermore, by adding 6 isothyocianates (IV - IX) we obtained the thyosemicarbazide derivatives (X-XV). This synthesis was carried out in alcoholic solution.

In order to obtain the thiadiazolic cyclic derivatives (XVI - XXI) we treated the thyosemicarbazide derivatives (X - XV) with concentrated sulfuric acid.

The triazolic cyclic derivatives (XXII - XXVII) were obtained after treating the derivatives (X - XV) with a diluted NaOH solution at boiling.

RESULTS

The chemical structure of the final derivatives was confirmed by C, H, N elemental analysis and by spectral IR analysis (tab. I).

DISCUSSIONS

The studying of the activity of the newly obtained substances was carried out on *Mycobacterium tuberculosis*. In the test tubes containing the growth medium Lowenstein - Jensen and the inoculums of the active strain of the microorganism we added the substances to be tested in the chosen concentrations. When the test tubes do not show any colony growth (or if the numbers are below the standard limits compared to the blank tubes containing no active substance), the strain is considered susceptible to the tested substance.

TABLE II
Preliminary and final results

Subst.	19 days					Final results				
	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8
XVI	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
XVII.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
XVIII.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XIX.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XX.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XXI.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XXII.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XXIII.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XXIV.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
X.V	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XVI.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
XVII.	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Blanks	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Two test tubes were used for the concentration of each substance. Two blank tubes containing solely the reference strain H37RV were also utilised. The inoculums were 10^4 CFU (colony forming units).The concentrations of the tested substances are usually established after testing a great number of "wild type" and reference strains. The lowest CMI concentration corresponds to the inferior susceptibility level. The following concentrations (in micrograms/ml) were used for this study: 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, and 0.8. The recommended critical concentration for Izoniazid - 0.2, which has the lowest CMI in all classic antituberculosis agents (10) was used as reference.

All tubes were incubated at 37^0 C for 10 weeks. The final results are shown in table II.

Early tests on *Mycobacterium tuberculosis* indicate that 2 of the tested substances (XVI) and (XVII) have clear antituberculosis activity in vitro for the tested concentrations. For the other tested substances further research is needed since the CMI hasn't been reached in their case.

CONCLUSIONS

We synthesised 12 new thiadiazolic and triazolic derivatives in order to obtain new possible antituberculosis agents.

We developed a precise and simple method for their chemical synthesis. Their structure was confirmed by the elemental and spectral analysis.

The tests on *Mycobacterium tuberculosis* indicate that 2 of the tested substances have clear antituberculosis activity *in vitro* for the tested concentrations.

REFERENCES

1. Stoicescu IP, Ibraim E, Plopeanu D. Tuberculoza în România în anul 2003. *Pneumologia* 2003 ; 53 : 1.
2. *** http : //www.who.org. WHO/IUTLAND Guidelines For Surveillance of Drug Resistant Tuberculosis. Geneva, 1997.

3. Kloeman A, Engel J. *Pharmazeutische Wirkstoffe*. 2 Aufl. Stuttgart: Gheorg Thieme Verlag, 1982.
4. Ungureanu M, Poiată A, Tuchiluş C, Sadici R. Researches concerning the synthesis and pharmacological activity of some new hippuric acid derivatives. *Rev Med Chir* 2003; 107 (3): 430-434.
5. Ungureanu M, Ciugureanu C, Şunel V, Grosu G. Dérivés de hydrazides avec support de 1,2,4-triazole biologiquement actifs. *Rev Med Chir* 1998; 102 (1-2): 163-167.
6. Martindeale M. *The Extra Pharmacopoeia*. London: The Pharmaceutical Press, 1989.
7. Ungureanu M, Galaction A. The synthesis of new izonicotinic acid derivatives with antituberculosis activity. *Rev Med Chir* 2002; 106 (3): 592-594.
8. Ungureanu M, Diculencu D, Ştirbu Archip C. Drugs susceptibility testing of mycobacterium tuberculosis by the absolute concentrations method of the newly thiooureea derivatives. *2nd EUFEPS Conference on Optimising Drug delivery and Formulation*. Versailles, France, 2005 November 20-23, Proceedings, 163.
9. Ungureanu M, Diculencu D, Archip C. Researches concerning the synthesis and antituberculosis action of some new sulphacetamide derivatives. *Rev Med Chir* 2006: 110 (2): 456-459.
10. Constantin M, Didilescu C, Spânu V, Galie N. *Tuberculoza pulmonară cu germeni chimiorezistenţi*. Bucureşti: Ed. Tehnică, 2001.

NOUTĂŢI

STUDII SCINTIGRAFICE PENTRU O NOUĂ TERAPIE ÎN ISCHEMIA ŞI INFARCTUL MIOCARDIC

Conform datelor clasice de fiziopatologie se consideră că moartea celulelor miocardice se realizează prin necroză, cu dispariţia precoce a integrităţii sarcolemale. Conceptul de apoptoză celulară ca factor patogenic asociat în ischemia şi infarctul miocardic a fost introdus în 1994. Dat fiind faptul că există modulatori ai apoptozei celulare, evidenţierea acestui caracter la nivelul leziunii miocardice ar prezenta un interes terapeutic deosebit. Un grup de cercetători francezi a studiat scintigrafic, pe modele animale, leziuni de ischemie şi necroză miocardică, cu ajutorul a doi radiotrasori: ^{99m}*Tc-anexină*, care se fixează la nivelul celulelor apoptotice, permiţând astfel evidenţierea imagistică, neinvazivă a acestui caracter celular, şi ^{111}*In anticorpi antimiozină*, marker de necroză miocitară. Studiul a demonstrat că apoptoza celulară debutează foarte devreme la nivelul zonei miocardice lezate, comparativ necrozei celulare. Amplificarea studiilor în acest domeniu poate aduce noi speranţe terapeutice în boala ischemică şi, îndeosebi, în infarctul miocardic (Sarda-Mantel L, Hervatin F, Michel J-B et al. Myocardial uptake of ^{99m}Tc-annexin-V and ^{111}In-antymiosin-antibodies after ischemia-reperfusion in rats. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008; 35: 158-165).

Cipriana Ştefănescu

INSTRUCŢIUNI PENTRU AUTORI

Revista Medico-Chirurgicală a Societăţii de Medici şi Naturalişti din Iaşi publică articole originale (de cercetare fundamentală şi clinică), articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update), articole tip prezentare de caz, note clinice şi experimentale, recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice etc. în domeniul medicinii şi în domeniile conexe. Nu sunt acceptate materiale publicate sau în curs de publicare în alte reviste, cu excepţia lucrărilor publicate în rezumat.

Pentru **articolele originale** conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, MATERIAL ŞI METODĂ, REZULTATE, DISCUŢII, CONCLUZII, MULŢUMIRI, BIBLIOGRAFIE.

Secţiunea Introducere (i) oferă suportul de informaţii care susţine, în baza literaturii de specialitate, subiectul vizat şi (ii) indică scopul pentru care a fost realizată cercetarea, subliniind elementele de noutate prin care se individualizează aceasta.

Secţiunea Material şi metodă include date precise, reproductibile şi verificabile, asupra materialul studiat, elementelor testate şi criteriilor de evaluare.

Secţiunea Rezultate prezintă, concis, datele obţinute (inclusiv sub formă de tabel sau figuri). În raport de scopul urmărit, acolo unde este cazul, rezultatele sunt validate printr-o prelucrare statistică adecvată. Textul acestei secţiuni va fi scris utilizând timpul trecut.

Secţiunea Discuţii urmăreşte interpretarea rezultatelor obţinute în cercetarea realizată, semnificaţia lor ştiinţifică fiind analizată în raport cu lucrările altor autori dedicate aceluiaşi subiect şi raportate în fluxul principal de publicaţii.

Secţiunea Concluzii subliniază aportul adus de cercetare în progresul cunoştinţelor în domeniu.

Secţiunea Mulţumiri include numele unor instituţii, organizaţii sau persoale care au contribuit decisiv în realizarea studiului.

Articole tip **trecere în revistă** (review) şi **actualităţi** (update) asupra unor subiecte de interes sunt în principal solicitate de editori, fiind însă luate în considerare, în sistem de peer-review, şi cele primite de la autori.

Pentru articolele tip **prezentare de caz**, conţinutul trebuie structurat în următoarele secţiuni: INTRODUCERE, PREZENTAREA CAZULUI, DISCUŢII.

PREGĂTIREA MANUSCRISULUI

Pregătirea manuscrisului se va face în conformitate cu instrucţiunile publicate în: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals (1994) *Lancet* 1996; 348; V2; 1-4.

Textul va fi scris cu fonturi Times New Roman 12 pts. Revista foloseşte ortografia cu *â* şi *sunt*. Numerotarea paginilor se face în partea din dreapta jos.

Abrevierile nu trebuie utilizate excesiv şi trebuie explicate la prima apariţie în text.

Materialele nu vor depăşi: articole originale - 6 pagini/2500 cuvinte; articole tip trecere în revistă (review) şi actualităţi (update) - 8 pagini/3500 cuvinte; articole tip prezentare de caz - 4 pagini/1700 cuvinte; note clinice şi experimentale - 3 pagini/1300 cuvinte; recenzii, articole tip scrisoare către editor, informări asupra unor reuniuni ştiinţifice - o pagină/450 cuvinte. Revista îşi rezervă dreptul unor modificări impuse de tehnoredactare şi aranjare în pagină.

Manuscrisele respinse, ca urmare a deficienţelor de conţinut, nu se returnează.

Titlul şi autorii

Titlul trebuie să fie cât mai scurt şi elocvent pentru conţinutul manuscrisului. Titlul se va scrie cu litere de rând. Numele autorilor vor fi scrise cu litere de rând, prenumele precedând numele, pentru autori prescurtat, pentru autoare întreg. Afilierea va cuprinde instituţia (Universitate şi Facultate/Spital) şi compartimentul (Departament/Disciplină/Secţie) pentru fiecare autor. Autorii sunt obligaţi să menţioneze autorul desemnat pentru corespondenţă, cu datele de contact (e-mail şi telefon).

Rezumatul

Rezumatul va conţine:	Recomandări speciale
* Obiectivele clare ale studiului	* Extrageţi elementele principale din fiecare etapă a studiului pentru a fi expuse cât mai concentrat
* Descrierea materialului şi metodelor utilizate (concis şi clar)	În rezumat **NU** vor fi incluse: * tabele, figuri sau note bibliografice * informaţii care nu sunt prezentate în studiu * mai mult de 200 de cuvinte
* Rezultatele obţinute (cele mai importante, exprimate, dacă este posibil, numeric şi evaluate statistic)	
* Concluziile cele mai importante şi semnificaţia lor ştiinţifică	

Întrucât rezumatele în limba engleză au o circulaţie internaţională, redactarea lor trebuie să fie conform normelor internaţionale. Rezumatul va fi precedat de titlul articolului, tradus în limba engleză, scris cu majuscule, urmat de cuvântul (Abstract), conform următorului model:

NEUROLOGICAL MANIFESTATIONS IN COLAGEN DISEASES (Abstract) : Colagen disease are ... (urmează textul scris în continuare, fără aliniate). La sfârşitul rezumatului în limba engleză se vor menţiona obligatoriu, cu majuscule, cuvintele-cheie (3 până la 5), în conformitate cu INDEX MEDICUS şi MEDLINE.

Subtitlurile din cuprinsul articolului trebuie scrise cu litere capitale.

Figurile şi tabelele trebuie inserate echilibrat în text. Fiecare figură sau tabel trebuie să fie însoţite de titlu şi legendă.

Figurile, numerotate cu cifre arabe, vor avea o lăţime de 6,5 cm (pentru a se încadra pe o coloană) sau de 13,5 cm (pentru a se încadra pe ambele coloane) şi vor fi menţionate în text în paranteză cu caractere drepte (fig. 1). Figurile trebuie să îndeplinească următoarele condiţii :

- fotografii scanate la o rezoluţie de minim 300 dpi şi prelucrate ulterior pe calculator, fişier original (*.TIFF, *.JPG) ;
- imagini (desene, grafice) realizate pe calculator, menţionate în text, fişier original (*.XLS, *.CDR).

Titlul şi legenda figurilor vor fi scrise conform modelului :

Fig. 2. Rezultatele clonării moleculare

Tabelele, numerotate cu cifre romane, menţionate în text în paranteze (tab. III), vor fi inserate în text şi vor avea o lăţime de 6,5 cm sau de 13,5 cm, fără să depăşească lăţimea unei pagini. Titlul tabelului va fi poziţionat deasupra tabelului conform modelului :

TABELUL III

Date analitice comparative

Bibliografia

Referinţele bibliografice trebuie numerotate cu cifre arabe *în ordinea apariţiei în text* (deci *nu în ordine alfabetică*). Bibliografia va fi plasată la sfârşitul articolului şi va cuprinde numai referinţele citate în text (prin menţionarea în paranteză a numărului referinţei). Abrevierea titlurilor revistelor se va face conform Index Medicus.

Dacă un articol are maximum 6 autori vor fi transcrise toate numele. În cazul în care sunt 7 sau mai mulţi autori, se vor menţiona doar numele primilor 3 autori la care se adaugă abrevierea et al.

Sunt acceptate următoarele forme de scriere a bibliografiei :

Articole din reviste :

Amura SG. Neurotransmitter transportor : recent progress. *Ann Rev Neurosci* 1993 ; 16 : 73-93.

Tonis PJ, von Sandick JW, Nieweg OE et al. The hidden sentinel node in breast cancer. *Eur J Nucl Med* 2002 ; 29 : 305-311.

Cărţi :

Titlul unei cărţi :

Ashcroft FM. *Ion Channels and Disease*. San Diego, London : Academic Press, 2000.

Capitol dintr-o carte :

Pandiom MR, Fischer DA. Immunoradiometric assays. In : Scabes CG editor. *Handbook of Endocrine Research Techniques*. New York, London : Academic Press, 1993, 26-52.

Pentru alte situaţii se va consulta site-ul : *www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html*

TRIMIREA MANUSCRISULUI

Manuscrisele, în dublu exemplar, tipărite pe foi A4, pe o singură faţă cu lăţimea paginii de 13,5 cm, vor fi depuse la Redacţia Revistei Medico-Chirurgicale sau trimise prin poştă pe adresa Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi, însoţite de formatul electronic, pe dischetă sau CD-Rom, menţionându-se procesorul de text folosit (de preferinţă Word).

COPYRIGHT

Acceptarea articolului pentru publicare implică asumarea transferului dreptului de proprietate intelectuală al autorilor asupra revistei. Formularul pentru copyright va fi semnat de autorul desemnat pentru corespondenţă.

ÎN ATENŢIA AUTORILOR

Deoarece este necesară contribuţia materială a autorilor la cheltuielile de editare şi tipărire ale Revistei Medico-Chirurgicale, începând cu numărul 1/2008 se impun următoarele condiţii :

1. Membrii cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi pot publica articole fără achitarea unei taxe.

2. Autorii care nu sunt membri cotizanţi ai Societăţii de Medici şi Naturalişti Iaşi vor achita o taxă de 50 RON în contul RO72RNCB0175033604340001, chitanţa fiind prezentată odată cu depunerea articolului.

Universitatea de Medicină şi Farmacie „Gr. T. Popa" Iaşi